

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

БОЙКО АНДРІЙ АНДРІЙОВИЧ

УДК: 616.716.4.004.64-08:616-003.9-018.4:57.084.1

**ДИСЕРТАЦІЯ
УСУНЕННЯ ДЕФЕКТІВ НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ В УМОВАХ ВПЛИВУ
НА РЕПАРАТИВНИЙ ОСТЕОГЕНЕЗ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

**галузі знань 22 «Охорона здоров'я»
за спеціальністю 221 «Стоматологія»**

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело _____ А.А. Бойко

Науковий керівник: Маланчук Владислав Олександрович – член-кореспондент НАМН України, професор, завідувач кафедри хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії НМУ імені О.О. Богомольця

Київ – 2024

АНОТАЦІЯ

Бойко А.А. Усунення дефектів нижньої щелепи в умовах впливу на репаративний остеогенез в експерименті. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 221 Стоматологія. – Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, МОЗ України, Київ, 2023.

Дефекти нижньої щелепи можуть виникати внаслідок системних (вроджені аномалії, загальні захворювання, прийом ліків) або місцевих (запалення, пухлини, травматичні ушкодження, такі як нещасні випадки або стоматологічні та хірургічні втручання) причин (Wu V, Helder MN, Bravenboer N, Ten Bruggenkate CM, Jin J, Klein-Nulend J, Schulten EAJM., 2019). Ці дефекти спричиняють тяжкі зовнішні деформації та дисфункції у пацієнтів через їх особливе анатомічне положення, викликаючи деформації обличчя, серйозно знижуючи якість їхнього життя (Li Y, Li D, Tang Z, Wang D, Yang Z, Liu Y., 2023). Травма є найпоширенішою причиною пошкодження нижньої щелепи (Khan TU, Rahat S, Khan ZA, Shahid L, Banouri SS, Muhammad N., 2022). Коли кістка ламається або тріскається, травма називається переломом (Ferneini EM. Mandibular Fractures., 2021). Переломи нижньої щелепи є одними з найпоширеніших (60-70%) переломів щелепно-лицевої ділянки (Nardi C, Vignoli C, Pietragalla M, Tonelli P, Calistri L, Franchi L, Preda L, Colagrande S., 2020), які мають багатофакторну етіологію, такі як дорожньо-транспортні пригоди, випадкові падіння, напади, нещасні випадки на виробництві, спортивні травми, вогнепальні поранення тощо.

Лікування хворих з дефектами нижньої щелепи та оптимізація умов репаративного остеогенезу в ділянці травми є актуальним питанням сьогодення, незважаючи на велику кількість інвазивних і неінвазивних

підходів до лікування та наукових досліджень на цю тему (Xue N, Ding X, Huang R, Jiang R, Huang H, Pan X, Min W, Chen J, Duan JA, Liu P, Wang Y.,2022). Незважаючи на те, що останні досягнення в хірургічній техніці та біоматеріалах покращили результати усунення дефектів нижньої щелепи, все ще виникають ситуації, коли регенерація кістки неможлива (Basyuni S, Ferro A, Santhanam V, Birch M, McCaskie A.,2020).

Нижню щелепу важче відновити, ніж інші частини кістки, через її мобільність, неправильну форму, зубний ряд і функцію порожнини рота. Лікувальні заходи для цієї категорії пацієнтів повинні бути спрямовані на повне відновлення анатомічної цілісності та функцій нижньої щелепи (Lykhytskyi OO.,2019).

На основі проведених досліджень у дисертаційній роботі встановлені нові теоретичні та практичні результати щодо застосування тималіну та гідроксиапатитвмісного остеотропного матеріалу «Біомін ГТ», які сприяють оптимізації процесів остеогенезу в ділянці дефектів нижньої щелепи. Виявлено нові фактори активації репаративного остеогенезу при заповненні кісткового дефекту остеотропним матеріалом та ін'єкцій тималіну в оточуючі м'які тканини в різні строки дослідження.

Мета дослідження – вивчити ефективність усунення дефектів нижньої щелепи шляхом їх заповнення остеотропним матеріалом з імуноактиваним компонентом і порівняти ефективність дії різних остеотропних матеріалів для заповнення кісткового дефекту в експерименті.

Об'єкт дослідження – 78 дефектів нижньої щелепи та біологічні рідини щурів лінії WAG з післяопераційними дефектами нижньої щелепи на різних стадіях репаративного остеогенезу; 6 інтактних щурів лінії WAG для біологічних рідин.

Предмет дослідження – процеси репаративного остеогенезу нижньої щелепи в післяопераційних дефектах нижньої щелепи, які заповнені різними способами.

В експериментальному дослідженні вивчено морфологічні та біохімічні особливості репаративного остеогенезу з використанням гідроксиапатитвмісного остеотропного матеріалу «Біомін ГТ» та тималіну (ін'єкції в оточуючі м'які тканини).

Для виконання поставлених завдань провели дослідження:

- 1) біохімічні: а) ротова рідина (секреторний імуноглобулін, фосфотаза)
б) кров (остеокальцину) в) біоптати (індекс мінералізації, фосфотаза).
- 2) імуногістохімічні: визначення експресії Т-лімфоцитів, В-лімфоцитів, макрофагів у післятравматичному регенераті нижньої щелепи щурів;
- 3) морфометричні: дослідження кісткової тканини із ділянки регенерату;
- 4) статистичні: непараметричні методи дослідження, методи варіаційної статистики та кореляційний аналіз для виявлення між групової різниці.

Статистичний аналіз проводили з використанням комп'ютерного програмного забезпечення «Statistica 6.1» (Stat Soft. Inc. США), «GraphPad Prism 5», PAST (версія 4.15, Музей природничої історії, Університет Осло, Норвегія). Розподіл вибірок закону нормального розподілу перевіряли за критерієм Шапіро-Вілка. Середні значення показників у групах порівнювали за допомогою t-критерію Стьюдента та U-критерію Манна-Уїтні. Порівняння центральних тенденцій у незалежних групах проводили за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні. Числові дані представляли у вигляді непараметричних характеристик: медіани вибірки (Me) та міжквартильного діапазону (значення 25-го та 75-го перцентилів). Відмінність між групами враховувалась значущим при $p < 0,05$.

Дослідження *in vivo* проводили на 78 сертифікованих лабораторних щурах лінії WAG вагою 160-180 гр., без зовнішніх ознак будь-якого запалення з віварію Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Тварини отримували однакове стандартне харчування та утримувалися в однакових умовах.

Під час роботи з лабораторними тваринами керувалися Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006), Методичними рекомендаціями про використання тварин у біомедичних дослідженнях [Стефанов О.В., 2002], із дотриманням етичних норм Директиви № 86/609/ЕС. Дослідження було затверджено Біоетичним комітетом з питань людини або дослідженням тварин у Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця (протокол № 181 від 29.01.2024).

Для експериментального дослідження загальна кількість тварин склала 78. Для біохімічного дослідження було взято 30 щурів, які поділенні на п'ять груп: з однаковою кількістю тварин ($n=6$).

До контрольної групи увійшли 6 інтактних щурів, до першої – щури, яким було змодельовано дірчастий дефект нижньої щелепи діаметром 3мм, до другої групи – тварини, у яких кістковий дефект нижньої щелепи заповнювали гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом «Біомін ГТ». До третьої групи увійшли щури з дірчастим дефектом нижньої щелепи з ін'єкцією тималіном в оточуючі м'які тканини, до четвертої – з дірчастий дефект заповнений остеотропним матеріалом «Біомін ГТ» та ін'єкцією тималіном у оточуючі м'які тканини.

Для морфологічного та імуногістохімічного дослідження було взято 48 щурів, які були поділенні на чотири групи: з однаковою кількістю тварин ($n=12$). До першої групи увійшли щури з модельованим дірчастим дефектом нижньої щелепи. До другої групи – тварини з модельованим дірчастим

дефектом нижньої щелепи з подальшим його закриттям гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом «Біомін ГТ». До третьої групи увійшли щури з модельованим дірчастим дефектом нижньої щелепи з ін'єкцією оточуючих м'яких тканин розчином тималіну. До четвертої групи увійшли тварини з модельованим дірчастим дефектом нижньої щелепи з подальшим його гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом «Біомін ГТ» та ін'єкцією розчином тималіну у оточуючі м'які тканини.

Тварини були піддані евтаназії на 3-тю, 7-му, 14-ту, 28 добу (по 3-4 тварини на кожен період), шляхом введення летальної дози тіопенталу натрію (200 мг на кг).

Забраний матеріал використовували для гістологічного, морфометричного, імуногістохімічного та біохімічного дослідження, виявлення морфологічних особливостей репаративного остеогенезу в кістці нижньої щелепи щурів і маркерів метаболізму, маркерів ремоделювання кісткової тканини (лужної та кислої фосфатаз, остеокальцину, визначення індексу мінералізації) за умов заповнення кісткового дефекту гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом "Біомін ГТ" та ін'єкції розчину тималіну у оточуючих м'яких тканин.

Розроблено та досліджено в експерименті методи впливу на репаративний остеогенез дефектів нижньої щелепи з використанням гідроксиапатитвмісного остеотропного матеріалу «Біомін ГТ» та ін'єкціями розчину тималіну в оточуючі м'які тканини.

У результаті проведеного біохімічного дослідження ротової рідини щурів було визначено, що вміст sIgA I – IV груп був нижчим порівняно з контрольною групою в терміни спостереження 3, 7, 14 діб. При цьому показник в IV групі був вище порівняно з I, II, III групами. На 28 добу вміст sIgA між I – IV групами складала 52%. В IV групі на 28 добу порівняно з контрольною групою показник був вищим (відповідно 22,60 [19,50; 28,85] мг/л – контрольна група, 24,65[19,78; 29,08] мг/л – IV група), що є

свідченням позитивного впливу проведеного комплексного лікування з застосуванням тималіну та остеогенного гідроксиапатитвмісного матеріалу «Біомін ГТ».

При аналізі отриманих результатів показано, що активність лужної фосфатази в ротовій рідині щурів контрольної групи складала - 12,90 [11,95; 15,58] ОД/л. Значне зниження активності лужної фосфатази, а саме на 43,12% спостерігалось в ротовій рідині щурів IV групи та цей показник дорівнював активності лужної фосфатази в щурів контрольної групи. Підвищена активність лужної фосфатази в ротовій рідині зумовлена значним її вивільненням із пошкоджених клітин м'яких та твердих тканин щелепи.

Активність кислої фосфатази в ротовій рідині інтактних тварин складала 7,10 [5,69;8,725] ОД/л. Показник в IV групі 8,40 [7,15; 9,62] ОД/л; статистично значуще відрізнявся від активності кислої фосфатази в слині щурів I-III груп експериментальних тварин, що свідчить про позитивну оцінку проведеної терапії.

Значна роль в регуляції мінерального обміну притаманна кислотній та лужній фосфатазі ротової рідини. Саме на 14 добу дослідження відбувається збільшення активності лужної фосфатази, а на 28-му добу – кислої фосфатази в ротовій рідині щурів IV групи. Це свідчить про позитивний ефект використання – для заміщення кісткової тканини остеогенним матеріалом «Біомін ГТ» та ін'єкціями тималіну в оточуючі м'які тканини.

Визначення остеокальцину (біохімічного маркеру остеогенезу) в крові щурів на 3-тю добу дослідження після моделювання дірчастого дефекту кісткової тканини нижньої щелепи в усіх експериментальних групах та на 7-му добу в щурів I та II групи визначено дисбаланс процесів, що забезпечують ремоделювання кісткової тканини, а саме превалювання процесів остеорезорбції над процесами остеосинтезу, про що свідчить знижений вміст у крові остеокальцину (відповідно 14,25 [13,33;15,88] нг/мл – I група, 14,85 [13,40;16,33] – II група, 17,95 [15,80; 19,85] нг/мл – контрольна група). Це

також є свідченням про зниження органічної складової кісткової тканини, що знайшло підтвердження в зменшенні вмісту в крові остеокальцину – біохімічного маркера остеогенезу.

Тільки на 14-ту та 28-му добу в крові щурів IV експериментальної групи спостерігається позитивна динаміка процесів репаративного остеогенезу, що свідчить про значне підвищення вмісту в сироватці крові остеокальцину (18,65 [17,48;19,98] нг/мл – 14-та доба та 17,95 [15,80; 19,85] нг/мл – 28-ма доба).

Результати дослідження активності ферменту лужної та кислої фосфатази в біоптатах нижньої щелепи щурів, що виділяється остеобластами та бере участь у мінералізації остеоїдів.

Визначення індексу співвідношення лужної та кислої фосфатази в кісткових біоптатах показав зростання цього параметра в щурів у всіх експериментальних групах дослідження з 3-тьої доби до 28-мої, однак отримані дані були нижче індексу мінералізації в інтактних тварин. Максимальне зростання значень індексу лужної та кислої фосфатази визначали в щурів IV експериментальної групи (відповідно 12,85[11,58; 14,13] – ЛФ 28-ма доба, 12,95 [11,50; 14,73] – контрольна група ЛФ; 0,95[0,52; 0,35] – КФ 28-ма доба, 0,71 [0,48; 0,84] МО/г – контрольна група КФ).

Морфологічне дослідження показало, що в тварин IV групи, призводило до швидшого очищення порожнини кісткового дефекту від некротичних тканин і фрагментів гематоми; зменшенню кількості нейтрофільних лейкоцитів, збільшенню кількості моноцитів, макрофагів, лімфоцитів, фібробластичних клітин, остеобластів та остеокластів з дотриманням їх правильного співвідношення в порожнині кісткового дефекту та в оточуючих тканинах; змінює умови проліферативного потенціалу фібробластичних клітин, остеобластів і остеокластів; активації гемопоетичних процесів у пластинчастій кістковій тканині з боку регенованої ділянки; активації процесів мінералізації кісткової тканини.

Морфометричне дослідження свідчить про більш прискоренні процеси репаративного остеогенезу та кровотворення в групі 3 , особливо, в групі 4 порівняно з групами 1 і 2.

У кістковій тканині, що межувала з дефектом, заповненим регенератом, коефіцієнт яскравості в групах 3 і 4 набув достовірно нижчого значення порівняно з групами 1 і 2 (відповідно 0.53 ± 0.012 – 3 група і 0.53 ± 0.008 – 4 група ; 0.59 ± 0.007 – 1 група і 0.59 ± 0.008 – 2 група;). На 28-му добу експерименту, порівняно з 14-ю добою, коефіцієнт яскравості зменшився в усіх групах.

У підсумку, після застосування чотирьох різних методів заповнення кісткового дефекту, не було ускладнень загоєння ран. Використання техніки заповнення кісткового дефекту гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом "Біомін ГТ" та одночасним обколюванням оточуючих м'яких тканин розчином тималіну, показало позитивний ефект проведеної терапії, що активує репаративний остеогенез нижньої щелепи щурів .

Ключові слова: нижня щелепа, дефект нижньої щелепи, остеогенез, кісткова тканина, стимуляція, морфологія, біохімія, тималін, остеотропний матеріал, регенерат, експеримент.

ABSTRACT

Boyko A.A. Elimination of defects of the lower jaw in the conditions of influence on reparative osteogenesis in the experiment. Qualifying scientific work as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 Health Care, speciality 221 Dentistry - Bogomolets National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2023.

Bone defects of the mandible can occur due to systemic (congenital anomalies, general diseases, medications) or local (inflammation, tumors, traumatic injuries such as accidents or dental and surgical interventions) causes (Wu V, Helder MN, Bravenboer N, Ten Bruggenkate CM, Jin J, Klein-Nulend J, Schulten EAJM., 2019). These defects cause severe external deformities and dysfunctions in patients due to their special anatomical position, causing facial deformities, seriously reducing their quality of life. (Li Y, Li D, Tang Z, Wang D, Yang Z, Liu Y., 2023). Trauma is the most common cause of damage to the bones of the lower jaw (Khan TU, Rahat S, Khan ZA, Shahid L, Banouri SS, Muhammad N., 2022). When a bone breaks or cracks, the injury is called a fracture (Ferneck EM. Mandibular Fractures., 2021). Mandibular fractures are one of the most common (60-70%) maxillofacial fractures (Nardi C, Vignoli C, Pietragalla M, Tonelli P, Calistri L, Franchi L, Preda L, Colagrande S., 2020), which have a multifactorial etiology, such as road traffic accidents, accidental falls, assaults, workplace accidents, sports injuries, gunshot wounds, etc.

The treatment of patients with bone defects of the lower jaw and optimisation of the conditions of the reparative osteogenesis in the mandible is an urgent issue today, despite the large number of invasive and non-invasive treatment approaches and scientific studies on this topic (Xue N, Ding X, Huang R, Jiang R, Huang H, Pan X, Min W, Chen J, Duan JA, Liu P, Wang Y., 2022).

Despite the fact that recent advances in surgical technique and biomaterials have improved the results of eliminating mandibular defects, there are still situations where internal regeneration is not possible (Basyuni S, Ferro A, Santhanam V, Birch M, McCaskie A., 2020). The lower jaw is more difficult to restore than other parts of the bone due to its mobility, irregular shape, dentition and oral function. Therapeutic measures for this category of patients should be aimed at the complete restoration of the anatomical integrity and functions of the mandible (Lykhytskyi OO, 2019).

On the basis of the research carried out in the dissertation, new theoretical and practical results were established on the use of thymalin and hydroxyapatite-containing osteotropic material "Biomin GT", which would contribute to the optimization of the processes of osteogenesis of bone tissue in the area of significant defects of the lower jaw. New factors for the activation of reparative osteogenesis were revealed when the bone defect was filled with osteotropic material and thymalin was injected into the surrounding soft tissues at different stages of the study.

The purpose of the study was to study the effectiveness of eliminating mandibular defects by filling them with osteotropic material with an immunoactivated component and to compare the effectiveness of different osteotropic materials for filling a bone defect in an experiment.

The object of the study was 78 defects of the lower jaw and biological fluids of rats of the WAG line with postoperative defects of the lower jaw at different stages of reparative osteogenesis; 6 intact rats of the WAG line for body fluids.

The subject of the research is the processes of reparative osteogenesis of the lower jaw in postoperative defects of the lower jaw, which are filled in various ways.

In the experimental study, the morphological and biochemical features of reparative osteogenesis were studied using the hydroxyapatite-containing osteotropic material "Biomin GT" and thymalin (injections into the surrounding soft tissues).

To accomplish the tasks, the following research was conducted:

1) biochemical: a) oral fluid (secretory immunoglobulin, phosphatase) b) blood (osteocalcin) c) biopsy specimens (mineralization index, phosphatase);

2) immunohistochemical: determination of the expression of T-lymphocytes, B-lymphocytes, macrophages in the post-traumatic regeneration of the lower jaw of rats;

3) morphometric: examination of bone tissue from the area of regenerate;

4) statistical: nonparametric research methods, methods of variational statistics and correlation analysis to identify intergroup differences.

Statistical analysis was carried out using computer software "Statistica 6.1" (Stat Soft. Inc., USA), "GraphPad Prism 5", PAST (version 4.15, Museum of Natural History, University of Oslo, Norway). The distribution of samples of the law of normal distribution was checked by the Shapiro-Wilk test. The mean values of the scores in the groups were compared using the Student's t-test and the Mann-Whitney U-test. Comparison of central trends in independent groups was carried out using the nonparametric Mann-Whitney test. Numerical data were presented in the form of nonparametric characteristics: the median of the sample (Me) and the interquartile range (values of the 25th and 75th percentiles). The difference between the groups was considered significant at $p < 0.05$.

In vivo studies were carried out on 78 certified laboratory rats of the WAG line weighing 160-180 g, without external signs of any inflammation from

the vivarium of the Bogomolets National Medical University. The animals received the same standard food and were kept in the same conditions.

When working with laboratory animals, they were guided by the Law of Ukraine "On the Protection of Animals from Cruelty" (N° 3447-IV of 21.02.2006), Methodological Recommendations on the Use of Animals in Biomedical Research [Stefanov O.V., 2002], in compliance with the ethical standards of Directive N° 86/609/EC. The study was approved by the Bioethics Committee on Human or Animal Research at Bogomolets National Medical University (Protocol No. 181 dated 29.01.2024).

For the experimental study, the total number of animals was 78. For the biochemical study, 30 rats were taken, which were divided into five groups: with the same number of animals (n=6).

The control group included 6 intact rats, the first group included rats that were simulated with a perforated defect of the lower jaw with a diameter of 3 mm, and the second group included animals in which the bone defect of the lower jaw was filled with hydroxyapatite-containing osteotropic material Biomin GT. The third group included rats with a perforated defect of the lower jaw with an injection of thymalin into the surrounding soft tissues, the fourth group included rats with a perforated defect filled with osteotropic material "Biomin GT" and an injection of thymalin into the surrounding soft tissues.

For morphological and immunohistochemical studies, 48 rats were taken, which were divided into four groups: with the same number of animals (n=12). The first group included rats with a simulated perforated defect of the lower jaw. The second group includes animals with a simulated perforated defect of the lower jaw with its subsequent closure with hydroxyapatite-containing osteotropic material "Biomin GT". The third group included rats with a simulated perforated defect of the lower jaw with an injection of the surrounding soft tissues with a

solution of thymalin. The fourth group included animals with a simulated perforated defect of the lower jaw followed by hydroxyapatite-containing osteotropic material "Biomim GT" and an injection of thymalin solution into the surrounding soft tissues.

The animals were euthanized on the 3rd, 7th, 14th, 28th day (3-4 animals for each period), by administering a lethal dose of sodium thiopental (200 mg per kg).

The collected material was used for histological, morphometric, immunohistochemical and biochemical studies, detection of morphological features of reparative osteogenesis in the bone of the lower jaw of rats and metabolic markers, markers of bone tissue remodeling (alkaline and acid phosphatases, osteocalcin, determination of the mineralization index) under the conditions of filling the bone defect with hydroxyapatite-containing osteotropic material "Biomim GT" and injection of thymalin solution in the surrounding soft tissue.

Methods of influencing reparative osteogenesis of mandibular defects using hydroxyapatite-containing osteotropic material "Biomim GT" and injections of thymalin solution into the surrounding soft tissues were developed and investigated in the experiment.

As a result of the biochemical study of the oral fluid of rats, it was determined that the content of sIgA I – IV groups was lower compared to the control group during the observation period of 3, 7, 14 days. At the same time, the indicator in group IV was higher compared to groups I, II, III. On day 28, the sIgA content between groups I – IV was 52%. In group IV on day 28, compared to the control group, the indicator was higher (respectively 22.60 [19.50; 28.85] mg/l – the control group, 24.65 [19.78; 29.08] mg/l – group IV), which is

evidence of the positive effect of the complex treatment with the use of thymalin and osteogenic hydroxyapatite-containing material "Biomin GT".

When analyzing the results obtained, it was shown that the activity of alkaline phosphatase in the oral fluid of rats of the control group was 12.90 [11.95; 15.58] U/l. A significant decrease in the activity of alkaline phosphatase, namely by 43.12%, was observed in the oral fluid of rats of group IV and this indicator was equal to the activity of alkaline phosphatase in rats of the control group. The increased activity of alkaline phosphatase in the oral fluid is due to its significant release from damaged cells of the soft and hard tissues of the jaw.

The activity of acid phosphatase in the oral fluid of intact animals was 7.10 [5.69; 8.725] U/L. Indicator in Group IV 8.40 [7.15; 9.62] U/L; was statistically significantly different from the activity of acid phosphatase in the saliva of rats of groups I-III of experimental animals, which indicates a positive assessment of the therapy.

Acidic and alkaline phosphatase of oral fluid plays a significant role in the regulation of mineral metabolism. It is on the 14th day of the study that there is an increase in the activity of alkaline phosphatase, and on the 28th day – acid phosphatase in the oral fluid of group IV rats. This indicates a positive effect of its use – for the replacement of bone tissue with osteogenic material "Biomin GT" and injections of thymalin into the surrounding soft tissues.

Determination of osteocalcin (biochemical marker of osteogenesis) in the blood of rats on the 3rd day of the study after modeling a perforated defect of the bone tissue of the lower jaw in all experimental groups and on the 7th day in rats of groups I and II, an imbalance of processes that ensure bone tissue remodeling was determined, namely the prevalence of osteoresorption processes over osteosynthesis processes, as evidenced by a reduced content of osteocalcin in the blood (14,25, respectively [13,33; 15.88] ng/mL – Group I, 14.85 [13.40;

16.33] – group II, 17.95 [15.80; 19.85] ng/ml – control group). This is also evidence of a decrease in the organic component of bone tissue, which was confirmed by a decrease in the content of osteocalcin, a biochemical marker of osteogenesis in the blood.

Only on the 14th and 28th days, a positive dynamics of reparative osteogenesis processes was observed in the blood of rats of the IV experimental group, which indicates a significant increase in the content of osteocalcin in the blood serum (18,65 [17,48; 19.98] ng/mL on day 14 and 17.95 [15.80; 19.85] ng/mL on day 28).

Results of the study of the activity of the enzyme alkaline and acid phosphatase in biopsy specimens of the lower jaw of rats, secreted by osteoblasts and involved in the mineralization of osteoids.

Determination of the index of the ratio of alkaline and acid phosphatase in bone biopsy specimens showed an increase in this parameter in rats in all experimental groups of the study from the 3rd to the 28th day, but the data obtained were lower than the mineralization index in intact animals. The maximum increase in the values of the index of alkaline and acid phosphatase was determined in rats of the IV experimental group (respectively 12.85 [11.58; 14.13] – ALP 28 days, 12.95 [11.50; 14.73] – control group ALP; 0.95 [0.52; 0.35] – CF 28 days, 0.71 [0.48; 0.84] IU/g – control group CF).

Morphological examination showed that in animals of group IV, it led to faster clearance of the cavity of the bone defect from necrotic tissues and fragments of the hematoma; decrease in the number of neutrophil leukocytes, increase in the number of monocytes, macrophages, lymphocytes, fibroblastic cells, osteoblasts and osteoclasts with the observance of their correct ratio in the cavity of the bone defect and in the surrounding tissues; changes the conditions of the proliferative potential of fibroblastic cells, osteoblasts and osteoclasts;

activation of hematopoietic processes in lamellar bone tissue from the side of the regenerated area; activation of bone mineralization processes.

Morphometric examination shows a more accelerated process of reparative osteogenesis and hematopoiesis in group 3, especially in group 4 compared to groups 1 and 2.

In the bone tissue bordering on the defect filled with regenerate, the brightness coefficient in groups 3 and 4 acquired a significantly lower value compared to groups 1 and 2 (0.53 ± 0.012 – group 3 and 0.53 ± 0.008 – group 4, respectively; 0.59 ± 0.007 – group 1 and 0.59 ± 0.008 – group 2;). On the 28th day of the experiment, compared to the 14th day, the brightness coefficient decreased in all groups.

As a result, after using four different methods of filling the bone defect, there were no complications of wound healing. The use of the technique of filling the bone defect with hydroxyapatite-containing osteotropic material "Biomim GT" and simultaneous pricking of the surrounding soft tissues with a solution of thymalin, showed a positive effect of the therapy, activating reparative osteogenesis of the lower jaw of rats.

Key words: mandible, mandibular defect, osteogenesis, bone tissue, stimulation, morphology, biochemistry, thymaline, osteotropic material, regenerate, experiment.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Boiko AA, Malanchuk VA, Myroshnychenko MS.. Reparative osteogenesis in mandible in cases of filling a bone defect with hydroxyapatite-containing osteotropic material and injecting the surrounding soft tissues with thymalin: experimental and morphological study. Wiad Lek. 2024;77(1):68-76. doi: 10.36740/WLek202401110 *(Здобувачем проведено виконання експериментального дослідження, статистична обробка результатів, аналіз даних та написання статті, висновки сформульовано із співавтором).*

2. Бойко АА, Наконечна ОА. Динаміка біохімічних маркерів гуморального імунітету та метаболізму в кістковій тканині нижньої щелепи за умов впливу на репаративний остеогенез. Укр. стоматол. альм. 2024;(1):6-12. doi.org/10.31718/2409-0255.1.2024.01 *(Здобувачем проведено виконання експериментального дослідження, статистична обробка результатів, аналіз даних та написання статті, висновки сформульовано із співавтором).*

3. Boiko AA, Malanchuk VA, Myroshnychenko MS, Markovska OV., Shapkin AS, Marakushyn DI. Expression features of T-lymphocytes, B-lymphocytes and macrophages in the post-traumatic regenerate of the mandible rats under conditions of filling a bone defect with hydroxyapatite-containing osteotropic material and thymalin injecting the surrounding soft tissues. Pol Merkur Lek.,. 2024;53(1):171-7. doi: 10.36740/Merkur202402105 *(Здобувачем проведено виконання експериментального дослідження, статистична обробка результатів, аналіз даних та написання статті, висновки сформульовано із співавтором).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

1. Гусейнов АН, Бойко АА. Місцева терапія імуностимулятора тимолін при лікуванні хворих на переломи нижньої щелепи: [тези.]. Укр. наук.-мед. молодіж. журн. 2020;(Спец вип 4, Annual young medical scientists` conference 2020; 2020 Nov 27-28; Kyiv):56-7.
2. Маланчук ВО, Гусейнов АН, Бойко АА. Застосування тимоліну при лікуванні хворих на відкриті переломи нижньої щелепи: В: Маланчук ВО, ред Матеріали VII з'їзду Української асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів. До 180-річчя НМУ та 25-річчя Української асоціації-щелепно-лицевих хірургів. 2021 Трав 14; Київ Київ; 2021 с. 95-6.
3. Маланчук ВО, Бойко АА. Лімфотропна терапія тимоліном при відкритих переломах нижньої щелепи В: Матеріали наук.-практ. конф. Сучасна стоматологія та щелепно-лицева хірургія. 2022 Трав 13; Київ. Київ; 2022. с. 81-3.
4. Маланчук ВО, Бойко АА. Обґрунтування використання імунокоректора "Тималін" при захворюваннях щелепно-лицевої ділянки». В: Матеріали VIII з'їзду Української асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів. З нагоди 30-ліття НАМН України, 20-ліття введення в НАМН фаху «Стоматологія». 2023 Трав 12; Київ. Київ; 2023. с. 30-6.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	22
ВСТУП	23
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	31
1.1. Дефекти нижньої щелепи: етіологія, патогенез, частота утворення, локалізація.....	31
1.1.1. Дефекти альвеолярного паростка при пошкодженні нижньої щелепи.....	33
1.2. Хірургічне лікування кісткових дефектів нижньої щелепи	39
1.3. Аналіз кістковозамінних матеріалів для усунення дефектів нижньої щелепи, репаративний остеогенез у ділянці дефектів нижньої щелепи.....	45
1.4. Використання Тималіну при дефектах нижньої щелепи.....	52
1.5. Основні біохімічні показники в кістковій тканині при остеогенезі.....	56
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	64
2.1. Характеристика експериментального матеріалу.....	64
2.2. Біохімічне дослідження при усуненні дефектів нижньої щелепи в умовах впливу на репаративний остеогенез.....	68
2.3. Морфологічне дослідження при усуненні дефектів нижньої щелепи в умовах впливу на репаративний остеогенез.....	73
2.4. Статистичні дослідження.....	76
РОЗДІЛ 3. ОСНОВНІ БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ В БІОЛОГІЧНОМУ МАТЕРІАЛІ ЯК МАРКЕРИ МЕТАБОЛІЗМУ В КІСТКОВІЙ ТКАНИНІ ПРИ ОСТЕОГЕНЕЗІ	77

3.1. Визначення основних біохімічних показників у слині експериментальних тварин у різні строки дослідження.....	77
3.2. Визначення остеокальцину в крові експериментальних тварин як основного біохімічного показника остеогенезу.....	85
3.3. Визначення основних біохімічних показників метаболізму кісткової тканини нижньої щелепи експериментальних тварин.....	90
РОЗДІЛ 4. МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ В НИЖНІЙ ЩЕЛЕПІ ЩУРІВ	97
4.1. Морфологічні особливості репаративного остеогенезу нижньої щелепи щурів групи 1.....	97
4.2. Морфологічні особливості репаративного остеогенезу нижньої щелепи щурів групи 2.....	106
4.3. Морфологічні особливості репаративного остеогенезу нижньої щелепи щурів групи 3.....	117
4.4. Морфологічні особливості репаративного остеогенезу нижньої щелепи щурів групи 4.....	127
РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	136
Висновки.....	143
Перелік використаних джерел.....	146
Додатки.....	167

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВЩФ – верхньо-нижньо щелепна фіксація

КФ – кисла фосфотаза

ЛФ – лужна фосфотаза

ЩЛД – щелепно-лицева ділянка

ТСР – β -трикальцій фосфат

IgA – імуноглобулін А

sIgA – секреторний імуноглобулін А

ВСТУП

Актуальність теми. Нижня щелепа - найміцніша та найбільша кістка обличчя, яка відіграє центральну роль у функціонуванні та естетиці ротової та щелепно-лицевої ділянки (ЩЛД) (Kyriakidou E., O'Connor N., Malden N. J., Lopes V. R., 2024). Дефекти кісткової тканини нижньої щелепи можуть виникати внаслідок системних (вроджені аномалії, загальні захворювання, прийом ліків) або місцевих (запалення, пухлини, травматичні ушкодження, такі як нещасні випадки або стоматологічні та хірургічні втручання) причин (Wu V., Helder M. N., Bravenboer N., Ten Bruggenkate C. M., Jin J., Klein-Nulend J., Schulten E. A. J. M., 2019). Ці дефекти спричиняють тяжкі зовнішні деформації та дисфункції у пацієнтів через їх особливе анатомічне положення, викликаючи деформації обличчя, серйозно знижуючи якість їхнього життя (Li Y, Li D, Tang Z, Wang D, Yang Z, Liu Y., 2023).

Травма є найпоширенішою причиною пошкодження нижньої щелепи (Литовченко Н. М., Астапенко О. О., Вефелев В. Ю., 2022; Khan T. U., Rahat S., Khan Z. A., Shahid L, Banouri S. S., Muhammad N., 2022). Коли кістка ламається або тріскається, травма називається переломом (Ferneini E. M.. Mandibular Fractures, 2021). Переломи нижньої щелепи є одними з найпоширеніших (60-70 %) переломів кісток ЩЛД (Nardi C., Vignoli C., Pietragalla M., Tonelli P., Calistri L, Franchi L, Preda L, Colagrande S., 2020), які мають багатofакторну етіологію: дорожньо-транспортні пригоди, випадкові падіння, напади, нещасні випадки на виробництві, спортивні травми, вогнепальні поранення тощо.

Лікування хворих на дефекти нижньої щелепи та оптимізація умов репаративного остеогенезу в ній є актуальним питанням сьогодення, незважаючи на велику кількість інвазивних та неінвазивних підходів до лікування та наукових досліджень на цю тему (Xue N., Ding X., Huang R., Jiang R., Huang H., Pan X., Min W., Chen J., Duan J. A., Liu P., Wang Y., 2022).

Незважаючи на те, що останні досягнення в хірургічній техніці та біоматеріалах покращили результати усунення дефектів нижньої щелепи, все ще виникають ситуації, коли регенерація неможлива (Basyuni S., Ferro A., Santhanam V., Birch M., McCaskie A., 2020). Нижню щелепу важче відновити, ніж інші частини кістки, через її мобільність, неправильну форму, зубний ряд і функцію порожнини рота. Лікувальні заходи для цієї категорії пацієнтів повинні бути спрямовані на повне відновлення анатомічної цілісності та функцій нижньої щелепи (Lykhytskyi O. O., 2019).

Потрібно досліджувати інноваційні методи для усунення дефектів нижньої щелепи та впливати на репаративний остеогенез. Таким чином, існує необхідність в подальшому пошуку нових методик для застосування поліпептидного екстракту тимусу та кістково замінних матеріалів, які б сприяли оптимізації процесів остеогенезу кісткової тканини в зоні значних дефектів нижньої щелепи. З цих позицій перспективним може бути використання окремо або в комбінованому застосуванні кістково замінних матеріалів та ін'єкцій навколишніх м'яких тканин поліпептидним екстрактом тимусу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційне дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії НМУ імені О.О. Богомольця: «Оптимізація методів хірургічного лікування захворювань щелепно-лицевої ділянки на підставі вивчення важливих біологічних, біофізичних та патогенетичних компонентів» № Держреєстрації 0121U108125.

Мета: вивчити ефективність методів для вдосконалення усунення дефектів нижньої щелепи в умовах впливу на репаративний остеогенез і порівняння різних методів усунення кісткового дефекту в експерименті.

Завдання дослідження:

1. Розробити в експерименті нові методи впливу на репаративний остеогенез при усуненні дефектів нижньої щелепи.

2. В експерименті на моделі дірчастого дефекту нижньої щелепи щура дослідити репаративний остеогенез в умовах проведеного лікування різними методами.

3. Визначити біохімічну ефективність застосування розчину тималіну на остеорегенеративні процеси нижньої щелепи за умов заповнення кісткового дефекту гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом «Біомін ГТ».

4. Визначити морфологічну ефективність застосування розчину тималіну на остеорегенеративні процеси нижньої щелепи за умов заповнення кісткового дефекту гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом «Біомін ГТ».

5. Проаналізувати та оцінити в порівняльному експерименті результати дослідження та визначити найбільш ефективну комбінацію лікувальних засобів при операціях на нижній щелепі з використанням розроблених методів.

Методи дослідження:

морфометричні: дослідження пластинчастої кісткової тканини із ділянки регенерату;

імуногістохімічні: визначення особливостей експресії Т- лімфоцитів, В-лімфоцитів, макрофагів у післятравматичному регенераті нижньої щелепи щурів;

біохімічні: показники слини; визначення остеокальцину в крові експериментальних тварин як основного біохімічного показника остеогенезу, стан кісткової тканини.

статистичні – непараметричні методи дослідження, методи варіаційної статистики та кореляційний аналіз для виявлення між групою різниці.

Об'єкти дослідження: нижня щелепа та біологічні рідини сертифікованих лабораторних щурів лінії.

Предмет дослідження: процеси репаративного остеогенезу дефектів нижньої щелепи, закритих різними способами.

Наукова новизна дослідження

Вперше вивчено ефективність комбінованого застосування розчину тималін з гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом "Біомін ГТ" для усунення дефекту нижньої щелепи з метою активації репаративного остеогенезу.

Вперше вивчено морфометричне та біохімічне дослідженнями при експериментальному усуненні дефекту нижньої щелепи запропонованим комбінованим методом.

Вперше визначена ефективність застосування розчину тималін у комбінації з гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом "Біомін ГТ" для усунення дефекту нижньої щелепи з метою активації репаративного остеогенезу в ділянці дефекту нижньої щелепи.

Дано рекомендації щодо вибору методу заповнення кісткового дефекту нижньої щелепи та ін'єкціями у м'які тканини, закриття операційних ран відповідно до задіяної анатомічної ділянки.

Практичне значення одержаних результатів

Соціально-медична значущість дослідження для суспільства та медичної науки: результати дослідження експериментальної моделі нижньої щелепи, закритої різними методами, вивчено морфологічні, біохімічні зміни нижньої щелепи при різних типах закриття кісткового дефекту нижньої щелепи.

Отримані дані демонструють, що комбінація застосування гідроксиапатитвмісного остеотропного матеріалу «Біомін ГТ» та ін'єкцій тималіну в оточуючі м'які тканини є одним із механізмів активації репаративного остеогенезу та стимуляцію місцевих імунних реакцій у експериментальному дефекті нижньої щелепи щурів.

Особистий внесок здобувача

Проведено експериментальне дослідження, виконано дефект нижньої щелепи у лабораторних тварин, закриття дефекту нижньої щелепи рани різними методами, самостійно проведено забір матеріалу для морфологічного та біохімічного дослідження, проведено статистичні дослідження. Здобувачем самостійно написано розділи дисертації, разом із науковим керівником проведено аналіз основних матеріалів дослідження та сформульовано висновки, та практичні рекомендації; написано наукові публікації, та тези доповідей за матеріалами дисертації.

Апробація результатів дисертації

Основні положення та результати дисертаційної роботи були висвітлені та обговорені на науково-практичних конференціях:

1. VII З'їзд асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів (14 травня 2021. Київ). Доповідь: «Застосування тимоліну при лікуванні хворих на відкриті переломи нижньої щелепи».

2. Науково-практична конференція «Сучасна стоматологія та щелепно-лицева хірургія» (13 травня 2022. Київ). Доповідь: «Лімфотропна терапія тимоліном при відкритих переломах нижньої щелепи.».

3. VIII З'їзд асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів (12 травня 2023. Київ). Доповідь: «Обґрунтування використання імунокоректора “Тималін” при захворюваннях щелепно-лицевої ділянки».

Публікації

За матеріалами дисертації опубліковано наукових праць – 8, в тому числі: 2 – статі в журналах Scopus, 1 – у виданнях, рекомендованих МОН України, 4 публікації – у наукових збірниках і тезах конференцій.

Основні публікації за темою дисертаційної роботи:

1. Boiko AA, Malanchuk VA, Myroshnychenko MS.. Reparative osteogenesis in mandible in cases of filling a bone defect with hydroxyapatite-containing osteotropic material and injecting the surrounding soft tissues with thymalin: experimental and morphological study. Wiad Lek. 2024;77(1):68-76. doi: 10.36740/WLek202401110 *(Здобувачем проведено виконання експериментального дослідження, статистична обробка результатів, аналіз даних та написання статті, висновки сформульовано із співавтором).*

2. Бойко АА, Наконечна ОА. Динаміка біохімічних маркерів гуморального імунітету та метаболізму в кістковій тканині нижньої щелепи за умов впливу на репаративний остеогенез. Укр. стоматол. альм. 2024;(1):6-12. doi.org/10.31718/2409-0255.1.2024.01 *(Здобувачем проведено виконання експериментального дослідження, статистична обробка результатів, аналіз даних та написання статті, висновки сформульовано із співавтором).*

3. Boiko AA, Malanchuk VA, Myroshnychenko MS, Markovska OV., Shapkin AS, Marakushyn DI. Expression features of T-lymphocytes, B-

lymphocytes and macrophages in the post-traumatic regenerate of the mandible rats under conditions of filling a bone defect with hydroxyapatite-containing osteotropic material and thymalin injecting the surrounding soft tissues. Pol Merkur Lek., 2024;53(1):171-7. doi: 10.36740/Merkur202402105 *(Здобувачем проведено виконання експериментального дослідження, статистична обробка результатів, аналіз даних та написання статті, висновки сформульовано із співавтором).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. Гусейнов АН, Бойко АА. Місцева терапія імуностимулятора тимолін при лікуванні хворих на переломи нижньої щелепи. Укр. наук.-мед. молодіж. журн. 2020;(Спец вип 4, Annual young medical scientists` conference 2020; 2020 Nov 27-28; Kyiv):56-7.

2. Маланчук ВО, Гусейнов АН, Бойко АА. Застосування тимоліну при лікуванні хворих на відкриті переломи нижньої щелепи: В: Маланчук ВО, ред Матеріали VII з'їзду Української асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів. До 180-річчя НМУ та 25-річчя Української асоціації-щелепно-лицевих хірургів. 2021 Трав 14; Київ Київ; 2021 с. 95-6.

3. Мланчук ВО, Бойко АА. Лімфотропна терапія тимоліном при відкритих переломах нижньої щелепи В: Матеріали наук.-практ. конф. Сучасна стоматологія та щелепно-лицева хірургія. 2022 Трав 13; Київ. Київ; 2022. с. 81-3.

4. Маланчук ВО, Бойко АА. Обґрунтування використання імунокоректора "Тималін" при захворюваннях щелепно-лицевої ділянки». В: Матеріали VIII з'їзду Української асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів. З нагоди 30-ліття НАМН України, 20-ліття введення в НАМН фаху «Стоматологія». 2023 Трав 12; Київ. Київ; 2023. с. 30-6.

5. Vladyslav Malanchuk, Agil Huseynov, Andrii Boiko. Lymphotropic therapy in treatment of mandible fractures: [Eposter.]. 25th Congress of the

European Association for Cranio Maxillo Facial Surgery virtual congress, held in July 14-16, 2021.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота написана українською мовою на 178 сторінках машинописного тексту та складається із вступу, п'яти розділів власних результатів дослідження, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, додатків. Список літератури складається з 177 наукових джерел, з яких кирилицею 22, латиницею 155. Робота містить 21 таблицю, 3 формули та ілюстрована 24 рисунками.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Дефекти нижньої щелепи: етіологія, патогенез, частота утворення, локалізація

Дефекти нижньої щелепи, що вимагають реконструкції, часто зустрічаються в щелепно-лицевій хірургії та зазвичай є результатом вроджених деформацій, запальних процесів, онкологічних захворювань і резекції пухлин або проведених хірургічно-стоматологічних втручань [1], травматичних ушкоджень, зокрема вогнепально-вибухових поранень [2]. У щелепно-лицевому комплексі нижня щелепа є найбільш ймовірною структурою, яка може бути пошкоджена під час бою [3,4]. Так, Хоменко П. та співавт. (2021) провели клінічно-епідеміологічний аналіз структури бойової хірургічної травми. Загальна кількість поранених внаслідок збройного конфлікту на сході України протягом 2014-2019 рр. становила понад 41 тисячу осіб. При цьому, перше рангове місце займали оскольчасті поранення: голови – 70,7 %, вогнепальні переломи кісток лицевого черепа були діагностовані у 42,1 % постраждалих [5]. Як відомо, набуті дефекти нижньої щелепи внаслідок травматичного порушення цілісності кістки є однією з найчастіших причин звертання до щелепно-лицевого хірурга, оскільки ці ушкодження є особливо виснажливими для пацієнта [6].

Жувальна система - це складна та високоорганізована група структур, що включає черепно-лицеві кістки (верхня та нижня щелепи), м'язи, зуби, суглоб та нервово-судинні елементи [7]. Цікаво, що розвиток, біологічних і клінічних властивостей вказують на відмінні особливості, які роблять кістку щелепи унікальною. Функціональне навантаження, що виникає при переживуванні їжі та ковтанні, сформувало специфічну архітекtonіку щелепних кісток. Так, кісткова тканина щелеп має певний ступінь пружності

(еластичності) відповідно до навантажень, що сприймаються. У зв'язку з цим анатомія та фізіологія щелепних кісток дозволяє зберегти структурну цілісність протягом усього життя людини та адаптуватися в умовах високої функціональної навантаженості та перевантаженості за величиною, напрямком і часом [8].

Видалення зубів є рутинною практикою в стоматології, що виконується за різними показаннями, такими як карієс зубів і його наслідки, невідновлювані переломи, захворювання пародонту, ортодонтичні показання, ускладнення після стоматологічного лікування, периапікальні ушкодження, травми та вимоги пацієнта [9,10]. Показання для видалення зубів включають карієс та його ускладнення у діапазоні від 36,0 до 55,3 %, пародонтит - від 24,8 до 38,1 %, травму - від 0,8 до 4,4 %, периапікальні захворювання - від 7,3 до 19,1 %, ортодонтії – від 2,5 до 7,2 %, інших причин – від 4,5 до 9,2 %. Наведені результати свідчать, що карієс і пародонтит є найпоширенішими показаннями для видалення зубів, а дослідження, які б достовірно оцінили частоту нестоматологічних і немедичних мотивацій для видалення, відсутні. З огляду на це, остаточне рішення щодо виконання або відмови в видаленні зуба з будь-яких причин, залишається за суміжними спеціалістами та хірургом-стоматологом [11].

Видалення зуба ініціює каскад біологічних подій, які генерують зміни гомеостазу та структурної конфігурації, призводячи до формування дефекту з активацією процесів ремоделювання та зменшення об'єму кісткової тканини верхньої та нижньої щелеп. Це фізичне явище пояснюється місцевою запальною реакцією, яка виникає після хірургічної травми та іншими чинниками, тому резорбція кісткової тканини після видалення зуба є неминучою [12]. Резорбція альвеолярної кістки відбувається навіть після самостійного загоєння альвеоли, але це залежить від типу видаленого зуба. У літературі існують різні дані щодо втрати кісткової тканини після видалення зуба, але відомо, що це відбувається переважно протягом перших 3 місяців

після видалення, більше у язиково-піднебінному, ніж у апікально-коронковому напрямі [13,14].

Показано, що суттєва втрата об'єму альвеолярної кістки після видалення зуба може поставити під загрозу майбутнє збереження або відновлення відповідної функції та естетику для пацієнта після комплексної реабілітації ротової порожнини. У той же час, альвеола після видалення зуба це унікальне середовище для регенерації кістки; вона завжди оточена альвеолярною кісткою, і це може забезпечити постійну стабільність і утримання плазматичних згустків під час процесу загоєння. Рекомендації лікаря та виконання їх пацієнтом може сприяти досягненню передбачуваних і задовільних результатів [15-17].

1.1.1. Дефекти альвеолярної кістки при пошкодженні нижньої щелепи

Альвеолярна кістка - це складна структура, яка утворюється шляхом внутрішньо мембранного окостеніння та походить із зубної мезенхіми, спирається на базальну кістку верхньої та нижньої щелеп та утворює зубні ямки, прикріплюється до зуба за допомогою волокон сполучної тканини періодонтальної зв'язки (PDL). Кісткова тканина зубної альвеоли є щільною кортикальною пластинкою, яка називається власне альвеолярною кісткою, і забезпечує прикріплення для PDL. Існує дві основні частини альвеолярної кістки: власне альвеолярна кістка та опорна альвеолярна кістка. Оскільки альвеолярна кістка поступово розвивається під час формування та прорізування зубів і зменшується у висоті з втратою зубів, вона є зубозалежною кістковою структурою [18,19].

Видалення зуба викликає низку складних та інтегрованих локальних змін у твердих і м'яких тканинах для закриття рани альвеоли та відновлення гомеостазу тканин. Загалом, процес загоєння альвеоли призводить до змін альвеолярної кістки - втрати об'єму та різноманітних змін форми. У

більшості випадків альвеолярна кістка стає коротшим і вужчим із більшою буквально та лабіальною резорбцією. В альвеолярній кістці відбуваються зміни, що призводять до ремоделювання кісткової тканини та зменшення її об'єму [20,21]. Щоб операція видалення зуба була успішною, вона повинна максимально звести до мінімуму дискомфорт пацієнта в післяопераційному періоді. Ознаками після екстракційних інфекційних ускладнень є абсцес, біль, лихоманка, набряк, тризм [22]. Іншим, відносно рідкісним ускладненням бактеріального походження є альвеолярний остит (суха альвеола). Vortoluzzi та співавт. (2010) визначили частоту виникнення сухої альвеоли, альвеолярної інфекції та післяопераційного болю після звичайного видалення зубів (473 видалені зуби). Спостережувана частота становила 0,6 % як для альвеолярної інфекції так і для сухої альвеоли. Більш високий рівень болю та біль, що зберігається довше двох днів, спостерігалися при більш травматичних операціях або при післяопераційних ускладненнях. Біль, пов'язаний з альвеолярним остейтом, викликає значний дискомфорт у пацієнта та його важко лікувати [23].

Як відомо, альвеолярний остит або «суха альвеола» є широко відомим ускладненням при видаленні зуба, спричиненим частковим або повним розпадом тромбу в альвеолі. Суха альвеола призводить до запалення оголеної альвеолярної кістки та сповільненню загоєння, що супроводжується поступовим посиленням болю, який може іррадіювати у вушну та скроневу ділянки [24]. Частота альвеолярного оститу коливається від 1 до 30 %, частіше у пацієнтів жіночої статі після видалення третього моляра нижньої щелепи [25]. Було виявлено багато факторів, що сприяють виникненню цього явища, включаючи наявні системні захворювання, прийом лікарських засобів, операційні методи та гігієнічні звички [22].

Збереження альвеолярного гребня показано для пом'якшення фізіологічних резорбтивних явищ, які виникають внаслідок видалення зуба. Так, у момент видалення зуба відбувається розрив пучків волокон

периодонта, що неминуче запускає механізм резорбції кортикальної пластинки вестибулярної стінки альвеоли, що залежить від її товщини та кількості волокон. У передньому відділі щелеп товщина вестибулярної стінки альвеоли рідко досягає 1 мм і при видаленні зубів піддається практично повному лізису. Тобто, вихідна товщина щічної кістки є сильним предиктором резорбції альвеолярної кістки [26].

Ito Y. та співавт. (2022) порівняли гістопатологічні зміни в процесах загоєння альвеол видалених зубів і переломів стегнової кістки та показали, що альвеола зуба відновлюється шляхом внутрішньо мембранної осифікації, а змодельований перелом стегнової кістки – шляхом ендохондральної осифікації [17]. Крім того, на загоєння кісток впливає реваскуляризація. У процесі загоєння альвеоли після видалення зубів спостерігається збереження великої кількості гематом у місці пошкодження, що може сприяти індукції добре розвиненої реваскуляризації, сприяючи утворенню внутрішньо мембранної кістки. Показано, що судини Н-типу сприяють остеогенезу під час ремоделювання альвеолярної кістки [27,28]. Загоєння альвеоли відбувається поетапно і процес починається відразу після видалення зуба приблизно протягом 6 місяців після цього [29]. Ідентифіковані три стадії загоєння альвеоли: стадії гемостазу та коагуляції, запалення, проліферації та ремоделювання, які прогресують відносно швидко з утворенням пластинчастої кістки та кісткового мозку, однак ремоделювання цієї новоутвореної кістки згодом прогресує повільніше і може тривати навіть роки після видалення зуба [20,30,31].

Виділяють три стадії загоєння альвеоли. Запальна стадія загоєння альвеоли, яка підрозділяється на фазу коагуляції та міграції запальних клітин, починається протягом 48-72 годин після видалення. Фаза коагуляції дуже важлива, оскільки чим стабільнішим і більш зрілим є утворений тромб, тим більш передбачуваним і сприятливим буде загоєння. Після видалення зуба альвеола негайно наповнюється кров'ю, що призводить до утворення

кров'яного згустку, всередині якого формується природня опорна структура, представлена переважно фібрином. У перші 7 днів кров'яний згусток замінюється грануляційною тканиною. Окрім сприяння досягненню гемостазу, цей початковий згусток крові також забезпечує адгезію клітин, які відіграють важливу роль на інших етапах загоєння альвеоли [21,32].

Наступним етапом цього процесу є утворення остеоїду та його звапніння [33]. При цьому, відбувається рекрутинг, міграція, диференціація та проліферація запальних клітин у відповідь на вивільнені цитокіни та фактори росту [20,28]. Так, наприклад, тромбоцитарний фактор росту (PDGF) та інтерлейкін (IL)-1 залучають до ранових ділянок нейтрофілів, трансформуючих факторів росту бета (TGF- β) допомагають перетворювати циркулюючі моноцити на макрофаги, а фактор росту ендотелію судин (VEGF), що вивільняється тромбоцитами та фактори росту фіброblastів (FGF), що вивільняються макрофагами, також сприяють утворенню позаклітинного матриксу (ECM). та ангиогенезу [34]. Клітини, що мігрують, призначені для очищення альвеоли перед новоутворенням кістки; це відбувається в перші 2-3 дні після видалення зуба та поступово можна спостерігати грануляційну тканину, утворену запальними клітинами, судинними паростками та незрілими фіброblastами, які повністю замінюють тромб; ця тканина починає замінюватися колагеновими волокнами та клітинами на такій фазі [34,35].

Фіброплазія, яка є швидким відкладенням тимчасової матриці, знаменує початок проліферативної стадії та вважається, що вона активується TGF- β 1 і FGF-2. Ця стадія загоєння альвеоли часто проходить у три фази: згадана фіброплазія та утворення плетеної кістки, яка є мінералізованою тканиною в сполучнотканинному матриксі, що вистелений остеоblastами та містить велику кількість остеоцитів [30,33]. Ця кістка не витримує навантаження і згодом потребує заміни; що можна спостерігати через 14 днів після видалення та зберігається протягом кількох тижнів, а через 5 тижнів

після хірургічного втручання приблизно дві третини альвеоли осифікується; кістка починає формуватися від апікальної частини та периферії до центру та альвеолярного гребеня [20,35].

Третя фаза – моделювання та ремоделювання кістки; моделювання відбувається в перші 3 місяці після видалення та це стосується архітектурних змін кісткової тканини; ця розмірна зміна відбувається у дві супутні фази: реабсорбція пучка кістки відбувається в першій фазі, що означає більшу вертикальну втрату щічного гребеня, оскільки він утворений цим типом кістки, а друга фаза відповідає реабсорбції зовнішньої кістки. Ремоделювання кісток може тривати від кількох місяців до років і демонструє помітну міжіндивідуальну мінливість. Після видалення зуба в пошкоджених місцях (за наявності внутрішньоротових дефектів кісток на момент видалення) загоєння відбувається повільніше та можна очікувати суттєвого зменшення об'єму, ніж після видалення зуба в неушкоджених ділянках [35,36]. Альвеолярна резорбція є більшою в перші 6 місяців після видалення, однак це триватиме протягом усього життя пацієнта [37].

Зміни розмірів альвеолярної кістки були широко вивчені. У систематичному огляді Kalsi-Ryan S. та співавт. (2019) повідомлялося про альвеолярну резорбцію 3,8 мм у ширину та 1,24 мм у висоту протягом перших 6 місяців після видалення зуба. Вестибулярна стінка розсмоктується швидше, що призводить до язикового нахилу кісткового валика. Товщина вестибулярної стінки впливає на швидкість резорбції. Коли вона становить 1 мм або менше, середня втрата кісткової тканини становить 7,5 мм через 8 тижнів після екстракції. Якщо вестибулярна товщина становить 1 мм або більше, вертикальна втрата кістки становить 1,1 мм [38].

Підсумовуючи, видалення зуба, яке колись було простою та зрозумілою хірургічною процедурою, слід виконувати, знаючи, які зміни будуть відбуватися після цього і слід розглядати подальші клінічні заходи для компенсації цих подій [20]. Методики атравматичного видалення зуба

передбачає збереження об'єму кісткової тканини, що потребує розробки диференційованого підходу для зменшення ушкоджень тканинних структур альвеолярної частини щелеп, для чого існує багато різних методів, технік, матеріалів, але їх важко порівнювати та надавати перевагу одному способу [39,40].

При класичній схемі загоєння епітелізація альвеоли після видалення зуба відбувається протягом 4-16 днів, через 30 днів альвеола заповнюється сполучною тканиною з ділянками остеїдної тканини. Тому в перші тижні після видалення відбувається процес атрофії, що характеризується інтенсивним розсмоктуванням альвеолярної кістки та частковою інвагінацією слизової оболонки [16]. Альвеолярна кістка піддається фізіологічному ремоделюванню, що призводить до вертикального та горизонтального зменшення, потовщення м'яких тканин. звуження ороговілої слизової оболонки. Ці зміни більш виражені в перші 3 місяці [41].

Через 3 місяці альвеола заповнена нативною кістковою тканиною, а на четвертому місяці у верхній частині альвеоли відбувається утворення компактної кістки. Однак, у клінічних умовах альвеолярні альвеоли зазвичай асоціюються з хронічним запаленням та терміни регенерації кісткової тканини змінюються: повна епітелізація альвеоли відбувається лише через 30 днів, а остеїд утворюється на другому місяці [42]. При цьому, пошкодження кісткових структур призводить до активізації остеокластичного компоненту кісткової тканини, коли баланс системи остеобласти-остеокласти зміщується у бік остеокластів і відбувається значна резорбція структурних компонентів кістки альвеолярної кістки, що клінічно проявляється зменшенням об'єму кісткової тканини [42].

Видалення зубів призводить як до горизонтальних, так і до вертикальних змін розмірів твердих і м'яких тканин. Дослідження показали горизонтальну втрату кісткової тканини на 29-63 % і вертикальну втрату кісткової тканини на 11-22 % через 6 місяців після видалення зуба [43].

Резорбція альвеолярної кістки довгий час вважалася неминучим наслідком видалення зуба та була серйозною проблемою в стоматології. Підтримка альвеолярної кістки після видалення зуба мінімізує залишкову резорбцію відростка. Доведено, що методи кісткової регенерації та використання матеріалів для заміни кістки покращують загоєння альвеоли та потенційно змінюють процес резорбції [44,45].

Отже, дефекти, пов'язані з втратою кісткової тканини, зменшенням об'єму та міцності кісток щелеп, мають значний вплив на мільйони людей, що ризикують втратити зуби та з ускладненнями аж до переломів щелеп. Дефект кісток щелеп після видалення зубів дуже поширені та є серйозною проблемою лікування та реабілітації стоматологічних пацієнтів. Навіть за дотримання всіх умов збереження структур альвеоли видаленого зуба, резорбція кісткової тканини неминуча. Для мінімізації явищ резорбції необхідно застосування методик ведення альвеоли у післяопераційному періоді, які дозволяють призупинити природні атрофічні процеси в кістковій тканині. При цьому, існують певні обмеження для деяких пацієнтів щодо ефективного лікування дефектів кісток, через складність процесу втрати та відновлення кісткової цілісності.

1.2. Хірургічне лікування хворих на кісткові дефекти нижньої щелепи

Щоб обмежити функціональні наслідки та їх соціально-психологічний вплив, мета реконструкції для усунення дефектів нижньої щелепи полягає у відновленні безперервності та функціональності, поверненні пацієнта до стану перед ушкодженням. При цьому, проблема заміщення набутих кісткових дефектів стає пріоритетним, а остеопластика визнана методом, що забезпечує ефективну реабілітацію пацієнтів [46].

Щелепно-лицевий хірург має у своєму розпорядженні широкий спектр доступних методів лікування, які протягом останніх років постійно

вдосконалюється. На жаль, у теперішній час немає остаточних рішень для вибору кісткових трансплантатів через нереалізований регенеративний потенціал кісткових дефектів і обмежену ефективність лікування [47].

Лікування черепно-щелепно-лицевих дефектів залишається проблемою навіть для досвідчених хірургів. Існують труднощі у встановленні точної репозиції та фіксації уламків, особливо при повній втраті анатомічних орієнтирів або оклюзійного співвідношення [48].

Титанова сітка вважається ефективним допоміжним засобом лікування щелепно-лицевої ділянки, оскільки є біосумісною, забезпечує достатній простір для розміщення кісткового трансплантанта та потребує мінімум гвинтів, щоб утримувати сітку в потрібному положенні [56]. Kaug A. та співавт. (2018) зробили висновок, що титанова сітка є універсальним варіантом для кісток щелепно-лицевих переломів, що забезпечують хорошу стабілізацію, особливо при щелепно-лицевих дефектах. Як метод фіксації, титанова сітка швидко встановлюється з високою адаптивністю, і тому є цінним методом відновлення форми та функції у пацієнтів із щелепно-лицевою травмою. При професійному застосуванні спосіб лікування скорочує період відновлення та значно покращує функціональні результати після операції. Доступні титанові сітки, які регулюються під час операції для точної адаптації до хірургічного дефекту [57]. Dai L. та співавт. (2016) використовували титанову сітку для лікування щелепно-лицевої травми (n=9). Більшість зміщених фрагментів збереглися та продемонстрували сприятливу формувальну здатність у відновленні морфології нижньої щелепи під час операції. Інтраопераційних ускладнень не виявлено. Крім того, у всіх пацієнтів не було інфекції, явної резорбції фіксованих фрагментів після операції. Нижня щелепа також демонструвала сприятливу морфологію та містила достатню кількість кістково-пластичного матеріалу для імплантації або протезування зубів. Автори дійшли висновку, що формування та фіксація титановою сіткою може ефективно лікувати щелепно-лицеві дефекти з

невеликою втратою кісткових фрагментів, низьким рівнем інфікування та сприятливою морфологією нижньої щелепи [58].

Розглядаються сучасні методики реконструкції дефектів нижньої щелепи, при цьому складність реконструкції варіює від простої жорсткої внутрішньої фіксації до перенесення тканини без мікросудин, залежно від дефекту та факторів, пов'язаних із пацієнтом, а також використання віртуального хірургічного планування та тканинної інженерії [2,59].

Коли для кісткової пластики заплановано отримати внутрішньоротовий автотрансплантант, забір матеріалу проводять з тіла та гілки нижньої щелепи, підборідкового симфізу, горба верхньої щелепи, ретромолярної ділянки. Серед недоліків: 1) обмежений доступний об'єм кісткового матеріалу; 2) проведення додаткових хірургічних маніпуляцій, що є травматичним для організму і потребує не лише фізичної, але й психоемоційної реабілітації; 3) виникнення післяопераційних ускладнень (інфікування, виникнення донорської рани, кровотеча тощо), що спонукає до використання альтернативних методів кісткової пластики [60]. Більшість пацієнтів повідомляють про свою перевагу ретромолярній ділянці як донорській ділянці [61], яка, як було показано, має низьку захворюваність донорської ділянки [62]. Проте деякі пацієнти відчувають післяопераційний біль під час жування, епізоди набряку та кровотечі [63-65]. Також описаний особливий ризик інфікування, розриву слизової оболонки та, насамперед, тимчасових нейросенсорних розладів [66,67].

Порівняно з традиційними автогенними кістковими трансплантатами кісткові ксенотрансплантанти та алотрансплантанти привертають увагу фахівців завдяки їхнім перевагам у необмеженій доступності без будь-якої захворюваності донорської ділянки та уникненні вторинного пошкодження. Серед недоліків: 1) низький рівень остеоінтеграції; 2) антигенні властивості; 3) тенденція до інфікування. Алоімплантант проходить тривалий період адаптації, при цьому імунологічна несумісність може призводити до

часткової резорбції алоімплантанта із розвитком переломів і фрагментації [69,70].

Автогенні та аlogenні остеоматеріали показали порівняльні результати. Tunkel D. та співавт. (2023) мали на меті порівняти обидва матеріали для аугментації щодо тривалості операції та інтра- та післяопераційних ускладнень. У 117 хворих із сегментарною атрофією нижньої щелепи проведено оперативне втручання з кістково заміним матеріалом за допомогою використання автогенної (n=52), аlogenної (n=60) кістки або обох матеріали (n=5). Основним параметром дослідження був час операції. Порівняно з автогенною технікою алогенна аугментація має менший термін хірургічного втручання та подібну частоту інтра- та післяопераційних ускладнень [70].

Різні методики можуть нарощувати кістку горизонтально та вертикально, але незрозуміло, які з них є найефективнішими. Серед цих методик найкраще задокументований та найбільш широко використовуваний метод нарощування кісткової тканини при локалізованих альвеолярних дефектах – це керована регенерація кістки [71].

При видаленні зуба неминуча тривимірна (3D) втрата альвеолярної кістки. Найчастіше горизонтальна втрата кісткової тканини відбувається швидше та більшою мірою порівняно з вертикальною втратою кісткової тканини. Це призвело до розробки кількох методів горизонтальної кісткової аугментації, таких як GBR, розширення альвеолярного гребеня, дистракційного остеогенезу та цільних трансплантів [72].

Chaushu S. та співавт. (2019) оцінено застосування алотрансплантів губчастої кістки для аугментації альвеолярної кістки нижньої щелепи (n=14) [73]. Критеріями включення був кістковий дефіцит щонайменше 3 мм по горизонталі та до 3 мм по вертикалі. Середній термін спостереження становив 26 ± 17 місяців. Середнє збільшення об'єму кісткової тканини становило $5 \pm 0,5$ мм по горизонталі та $2 \pm 0,5$ мм по вертикалі.

Остеоінтеграція блоку та встановленого імплантанту становила 91,6 і 100 %, відповідно. Гістоморфометрично середня частина новоутвореної кістки становила 42 %, залишкового губчастого блоку-алотрансплантанта – 17 %, а кісткового мозку та сполучної тканини – 41 %. Автори вважають потенціал алотрансплантантів губчастої кістки для відновлення альвеолярної кістки нижньої щелепи багатообіцяючим [73].

Khoury F. та Hanser T. (2015) зробили популярною техніку, за допомогою якої кісткові дефекти можна відновити за допомогою кортикальних кісткових опор [74], яку стали виконувати для горизонтального та/або вертикального збільшення кістки за допомогою автогенної або алогенної кістки. Коли йдеться про регенерацію складних дефектів альвеолярної кістки, аутологічні кісткові трансплантанти часто називають єдиним методом лікування. Показано, що інноваційні біоматеріали, як алогенні кісткові трансплантанти, мають потенціал для імітації функцій аутологічних кісткових трансплантантів і забезпечують відмінні клінічні результати без необхідності другого хірургічного втручання [69,75]. Ці оболонки утворюють відокремлений простір між матеріалом і залишковою кісткою, який можна заповнити різними матеріалами-замінниками кістки для кісткової регенерації [69,70,76,77].

Остеодистракційний остеогенез дозволяє більш вертикально збільшити кісткову тканину, ніж інші методи, які, з іншого боку, можуть дозволити одночасно горизонтальну кісткову пластику [78].

Клінічний вертикальний приріст кісткової тканини та частота ускладнень відрізняється для різних процедур, із зваженим середнім приростом 8,04 мм і частотою ускладнень 47,3 % для distraкційного остеогенезу, 4,18 мм і 12,1 % - для регенерації кістки, і 3,46 мм і 23,9 % для остеопластичного матеріалу. У порівняльних дослідженнях метод регенерації кістки досяг значно більшого приросту кісткової тканини порівняно з остеопластичними матеріалами [79].

При ускладненнях загоєння після вертикальної регенерації кістки спостерігається значне зменшення приросту кісткової тканини. Однак, ускладнення загоєння є відносно рідкісними хірургічними ускладненнями після вертикальної регенерації кістки [80].

Хірургічна процедура виконання кісткової пластики залишається складною проблемою для хірургів. Хоча техніка забору кісткової тканини є відносно добре розробленою, позиціонування та фіксація кісткового остеоплатичного матеріалу в реципієнтній ділянці залежить виключно від особистого досвіду хірурга [81]. Нові цифрові технології та інновації суттєво змінили хірургічні процедури для різних технік нарощування кісток. Misch SE (2017) повідомив про виготовлення копії цільового кісткового остеопластичного матеріалу як шаблону для збирання та розміщення автогенних кісткових трансплантантів, забезпечуючи адекватний об'єм і правильне розташування блокових трансплантантів для реконструкції альвеолярних дефектів [82].

Figliuzzi M. та співавт. (2013) вперше повідомили про індивідуальне автоматизоване проєктування/виробництво пористих гідроксиапатитових остеопластичних матеріалів для збільшення задньої частини нижньої щелепи та мінімізації хірургічного втручання за наявності атрофії кістки. Виготовлені каркаси добре відповідали формі кісткових дефектів і могли бути легко імплантовані під час операції. Таке узгодження форми дозволило скоротити час операції та сприяло оптимальному загоєнню дефектів. Через 6 місяців спостерігали новоутворену та добре інтегровану кістку, яка повністю заповнювала задні дефекти нижньої щелепи [83]

Таким чином, запропоновані методики лікування різноманітних дефектів кісткової тканини щелеп включають кісткові трансплантанти, кісткові замітники, керовану регенерацію тканин, дистракційний остеогенез, а також їх комбінації. Щелепно-лицева реконструктивна відновлювана хірургія залишається сьогодні актуальною проблемою для усунення

кісткових дефектів нижньої щелепи, покращення механізмів репаративного остеогенезу із застосуванням сучасних кістковозамінних матеріалів, з метою запобігання післяопераційних ускладнень та покращення якості життя пацієнта. Також, впровадження та розробка нових лікувальних підходів і матеріалів вимагає використання відповідних тваринних моделей, які представляють анатомію кісток і шляхів загоєння, порівнянних з людськими.

1.3. Аналіз кістковозамінних матеріалів для усунення дефектів нижньої щелепи, репаративний остеогенез дефектів нижньої щелепи

Протягом останніх десятиліть у світі спостерігається збільшення кількості стоматологічних хірургічних втручань, коли виникає необхідність застосування кістковозамінних матеріалів для ефективного заміщення кісткових дефектів та мінімізації симптомів післяопераційного періоду у пацієнтів [84]. Вибір відповідного остеоматеріалу є одним із ключових питань при проектуванні сучасного тканинного матеріалу та плануванні всього процесу лікування кісткових дефектів [85].

Основним принципом дії імплантаційного матеріалу є збереження об'єму кісткової тканини альвеолярної кістки за рахунок заповнення ними кісткового дефекту після екстракції зуба [20]. Присутність біопластичних матеріалів в альвеолі зуба сприяє стабілізації процесів регенерації. Тому, для розвитку хірургічної стоматології надзвичайно важливим та актуальним завданням є пошук та впровадження в практику імплантаційного матеріалу, який за своїми властивостями відповідав би характеристикам автокістки не тільки для заміщення втрачених тканин, але й для покращення регенерації кісткової тканини та полегшення симптомів післяопераційного періоду у прооперованих пацієнтів [86].

Незважаючи, що використання автогенного трансплантата залишається еталонним стандартом, розвиток тканинної інженерії зробив

революційний вплив у хірургії, підвищивши хірургічну ефективність і зменшивши ризики, пов'язані з традиційними методами отримання кісткового трансплантанта. Порівняно з автогенними кістковими трансплантатами, композитні трансплантанти відповідають принципам остеокондукції, остеоіндукції та остеогенезу та забезпечують адекватний об'єм кістки для щелепної реконструкції з меншою захворюваністю пацієнтів [87]. У різні роки з метою усунення дефіциту кісткової тканини було запропоновано різні види трансплантатів, остеопластичних матеріалів або їхнє поєднання [88].

Остеопластичні матеріали в стоматології, залежно від їх походження, традиційно поділяють на автогенні, аlogenні, ксеногенні, алопластичні (синтетичні, штучні кісткові замітники) та композиційні матеріали. Ці групи матеріалів мають як позитивні властивості, так і певні недоліки. Тому були сформульовані основні вимоги до них [89], а саме [90]: 1) остеогенність (здатність викликати ріст кісткової тканини за рахунок остеогенних клітин); 2) остеоіндукція (здатність стимулювати ріст кісткової тканини в результаті впливу на диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин (білки крові, фактори росту, біоактивні компоненти, які сприяють росту кістки); 3) остеокондукція (здатність виконувати роль пасивного матриксу для росту нової кістки з наступною резорбцією матеріалу), а також пористість (забезпечує проростання нової кісткової тканини); біо- та імуносумісність, інфекційна безпечність; відсутність морально-етичних, релігійних та юридичних проблем при використанні; доступність та низьку ціну [90]. Крім того, біологічно активні агенти, фактори росту, зараз використовуються для стимуляції остеоіндуктивних властивостей нативної кістки для кісткової регенерації [86]. Дослідження *in vitro* та *in vivo*, які продемонстрували відновлення кісткової та хрящової тканини за допомогою різних типів матеріалів, стовбурових клітин і факторів росту, є перспективним для пришвидшення репаративного остеогенезу в ЩЛД [92]. Місцеві системи

доставки, що поєднують остеокондуктивний біоматеріал з остеоіндуктивними сполуками, такими як гормони, фактори росту або ліки, є популярним підходом, спрямованим на заміну потреби в автогенних кісткових трансплантатах. Тим не менш, незважаючи на інтенсивні дослідження в цій ділянці, в цей час не існує системи, яка могла б імітувати всі біологічні функції автогенних кісткових трансплантантів [93].

Зважаючи, що при реконструкції кісткової тканини остеопластичний матеріал має утворювати в рані кістковий матрикс, не бути токсичним, канцерогенним, не викликати імунну відповідь організму, мати прогнозований час перебудови матеріалу, автотрансплантанти відповідають цим критерієм і залишаються золотим стандартом у клініці, володіючи остеогенними (наявність автогенних кісткових клітин), остеокондуктивними (наявність колагену та мінералів кістки) та остеоіндуктивними (наявність неколагенових білків кісткового матриксу) властивостями. У той же час, використання автотрансплантантів значно обмежене травматичною доступністю та значним ушкодженням донорської ділянки. Крім того, автотрансплантанти залежать від васкуляризації після трансплантації, що ставить під загрозу інтеграцію трансплантанта і часто призводить до невдачі [94,95].

За структурою автотрансплантанти поділяють на кортикальні, губчасті та кортикально-губчасті. Вважається, що використанні губчастих кісткових трансплантантів забезпечує більш швидку та повноцінну реваскуляризацію, оскільки вони містять більше клітин, які сприяють диференціації, проліферації та остеогенезу, а в кортикальних кісткових трансплантатах ці процеси відбуваються більш повільно, але деякі автори вважають, що кортикально-губчастий трансплантант за рахунок кортикальної частини надає міцності, а за рахунок клітин губчастої частини підвищує остеогенний потенціал [96].

Необхідність розробки нових підходів до кісткової реконструкції виникає внаслідок того, що традиційні терапевтичні методи, такі як аутологічна кісткова пластика, має численні перешкоди та обмеження, створюючи потенціал для значних ускладнень [97].

Алотрансплантанти підлягають спеціальній обробці, при якій забезпечуються їх остеокондуктивна та остеоіндуктивна властивості. Використання алотрансплантанту також не позбавлене проблем, таких як імунне відторгнення, передача захворювань і високий рівень невдач [98].

Остеоіндукція обговорюється поруч із остеокондуктивним ефектом алогенної кістки, який, як вважається, залежить від обробки алотрансплантанта [99]. У той час як безпека алотрансплантатів обговорювалася неоднозначно [100,101], мінералізовані оброблені кісткові алотрансплантанти вважаються безпечними продуктами [102,103].

Для біологічної реконструкції кісткових дефектів часто використовують комбінації алогенних та аутологічних кісткових трансплантатів [104].

Досягнення тканинної інженерії призвели до інноваційного дизайну каркасу, доповненого прогресом у розумінні терапії на основі стовбурових клітин і посилення факторів росту каскаду загоєння кісткового дефекту [105]. Liang J. та співавт. (2018) проаналізували 16 досліджень із застосуванням 6 замінників кісткового трансплантанта в альвеолярній кістці: гідроксиапатит, демінералізований кістковий матрикс, β -трикальцій фосфат, фосфат кальцію, рекомбінантний морфогенний білок людської кістки-2. Автори виявили, що демінералізований кістковий матрикс, β -трикальцій фосфат, рекомбінантний морфогенний білок людської кістки-2 і рекомбінантний морфогенний білок людської кістки-7 найбільш детально вивчалися в літературі. Рекомбінантний морфогенний білок людської кістки-2 продемонстрував порівнянну ефективність щодо об'єму кісткової регенерації та щільності кісткової тканини, порівнянну з аутологічною трансплантацією гребеня стегнової

кістки, що вважається менш схильною до резорбції та більш здатною до регенерації [106]. Однією з досліджуваних альтернатив є аутологічні тверді тканини зуба [107,108].

Системи з нержавіючої сталі та титану зазвичай використовують для реконструкції при щелепно-лицевій травмі. Титан біологічно сумісний, відносно інертний, гнучкий і має модуль пружності, як у кістки [48]. Численні попередні дослідження порівнювали ефективність кісткових пластин з титану та нержавіючої сталі. Taheri M. та співавт. (2011) дійшли висновку, що, порівняно з титановими, гвинтами з нержавіючої сталі створюється менша напруга в місці перелому під час фізіологічного навантаження на кістку [109]. Lujan E. та співавт. довели, що кістки з титановим покриттям дозволяють краще формувати кісткову мозоль порівняно з кістками з покриттям з нержавіючої сталі [110]. Barber та співавт. (2021) у своєму систематичному огляді дійшли висновку, що імпланти з нержавіючої сталі мають такі ж або кращі біомеханічні властивості порівняно з титановими імплантатами. Однак є клінічні докази, що в деяких ситуаціях титанові пластини мають нижчий рівень несправності та викликають менше ускладнень, ніж аналогічні імплантанти з нержавіючої сталі [111].

Титанова сітка є кращим вибором порівняно з титановими міні-пластинами реконструкцією нижньої щелепи, як показано [109,110] у порівнянні з титановими міні-пластинами титанова сітка забезпечує чудову 3-вимірну стабільність і більшу пластичність, отже, має кращі властивості для контурування, забезпечує напівжорстку фіксацію з меншим ефектом екранування напруги та сприяє швидшому загоєнню, дозволяючи мікрорухи на сегментах перелому. У процедурах аугментації хребта пориста титанова сітка показала відмінні результати в регенерації кісткової тканини, якщо використовувати її самостійно або як доповнення до розсмоктуючих мембран і кісткових білків. Наявність пористості або каналів сітці забезпечує

безперебійне кровопостачання підлеглої кістки та м'яких тканин, таким чином зберігаючи життєздатність цих структур [54].

Одним із основних ускладнень використання титанової сітки є оголення сітки, що призводить до інфекції та утворення нориці. Nazzal J. та співавт. спостерігали, що зі збільшенням часу імплантації металевих міні-пластин спостерігається значне збільшення запальних клітин, і тому виступали за видалення нефункціональних міні-пластинок після загоєння кістки [113]. Досі точаться дискусії щодо видалення металевих сіток, пластин і гвинтів після завершення загоєння перелому. Вважається, що лише за наявності у пацієнта ускладнень у майбутньому показана повторна операція з видалення пластини та сітки [54].

Реконструкція дефектів ЩЛД після травматичних ушкоджень залишається серйозною проблемою для хірургів. Збереження кістки та первинна регенерація є щоденним викликом у стоматології Біорезорбуючі мембран були розроблені, щоб подолати недоліки систем металевих імплантантів. Але зазвичай їм не надають перевагу через притаманну їм відсутність достатньої механічної міцності для забезпечення стабільної фіксації та ризик несприятливої запальної реакції стороннього тіла під час біодеградації імплантанту в організмі під час загоєння [114]. Останніми роками біорозсмоктуючі метали на основі магнію широко досліджувалися завдяки їх модулю пружності, подібному до кістки, високої біосумісності, антимікробним і остеокондуктивним властивостям. Синтетичні біоматеріали на основі магнію є перспективними кандидатами для регенерації кісткової тканини порожнини рота порівняно з іншими наявними на цей час синтетичними матеріалами [115].

Регенерація дефектів щелеп вимагає застосування матеріалів для кісткового трансплантата, які сприяють формуванню нової кістки безпечним, надійним і прогнозованим способом. Окрім аутологічного кісткового трансплантата, кілька типів матеріалів-замінників кістки стали клінічно

доступними, і сьогодні основні зусилля фахівців зосереджені на вдосконаленні таких матеріалів-замінників кістки шляхом оптимізації їхніх властивостей. Враховуючи нормативну необхідність оцінки ефективності нових матеріалів-замінників кістки для регенерації щелепно-лицевих кісток створюють моделі, подібні до людської кістки, перед клінічним застосуванням [116]. Так, Gallego D. та співавт. (2010), які оцінили новий альвеолярний каркас, засіяний альвеолярними остеобластами людини, імплантований в експериментальному, критичні дефекти нижньої щелепи 8 щурів з імунодефіцитом [117]. Експериментальний білковий каркас був виготовлений з людського плазматичного альбуміну, поєднаного з глутаральдегідом. Дефекти з правого боку нижньої щелепи лівої половини у всіх тварин отримали конструкцію клітинного каркаса. Дефекти нижньої щелепи зліва залишали без лікування. Через 5, 8 та 11 тижнів після операції гістологічно утворення кістки спостерігалось в обох групах через 5 тижнів, а реконструйована кістка стала більш зрілою, подібною до нормальної кістки, через 8 і 11 тижнів. Щільність кісткової тканини через 8 тижнів була значно вищою, ніж через 5 тижнів, і значні відмінності також спостерігалися між 8 і 11 тижнями. Результати вказують на клінічну доцільність використання альвеолярних клітин людини як альтернативи для регенерації кісток нижньої щелепи [117].

Для оцінки регенерації кісткової тканини нижньої щелепи як експериментальну модель також часто використовують щелепи кролика [118] Так, наногідроксиапатит/колаген - це новий тип каркасного матеріалу для реконструювання кісткової тканини. Щоб прискорити формування нової кістки наногідроксиапатит/колаген, у дослідженні Zhu X. та співавт. (2022) використовували концентрований фактор росту і наногідроксиапатит/колаген у комбінації для пришвидшення репаративного остеогенезу нижньої щелепи кроликів, концентрований фактор росту і наногідроксиапатит/колаген були імплантовані в нижню щелепу кролика, а через 8, 16 і 24 тижні після операції

результати показали, що в міру деградації матеріалу швидкість утворення нової кістки в групі концентрований фактор росту і наногідроксиапатит/колаген була кращою, ніж у групі наногідроксиапатит/колаген. Цілісність або зрілість кісткової тканини в групі концентрований фактор росту і наногідроксиапатит/колаген була кращою, ніж у групі. Біомеханічний тест показав, що міцність на стиск і модуль пружності у групі концентрований фактор росту і наногідроксиапатит/колаген були вищими, ніж у групи наногідроксиапатит/колаген. За висновками авторів, матеріали концентрований фактор росту і наногідроксиапатит/колаген можуть сприяти утворенню нової кістки, надаючи нові ідеї для застосування каркасних матеріалів для інженерії кісткової тканини [118].

Таким чином, питання прискорення процесів репаративної регенерації кісткової тканини нижньої щелепи в ділянці дефекту, що утворився через вплив різних патологічних чинників, та подальшого відновлення функціонування ЩЛД та формам щелеп приділяється підвищена увага фахівців. Розробка та застосування нових імплантаційних матеріалів для відновлення кісткової тканини у стоматології залишається актуальною та остаточно не вирішеною проблемою, що потребує подальших поглиблених досліджень.

1.4. Використання Тималіну при дефектах нижньої щелепи

Повсякденні стреси є неминучими для всіх живих істот. Організм та його окремі структури здатні за рахунок резервних регуляторних сил протистояти стресорному впливу протягом певного часу. Потім компенсаторні механізми змінюються декомпенсацією, деструкцією та загибеллю тканини чи органу [120]. Відомо, що згідно концепції Г. Сельє (2022) про загальний адаптаційний синдром, після будь-якого стресорного впливу (травма, інтоксикація, інфекція тощо), коли спочатку виникає стадія

«тривоги» тривалістю 24-48 годин, що супроводжується гострою інволюцією тимусу. Згодом (з 3-5 доби) настає стадія «резистентності», що характеризується відновленням функції тимусу та припиненням подальшого розвитку патологічного процесу [121].

Проблема фізіологічної корекції функції імунної системи при різній патології є вкрай актуальною. Відома велика кількість препаратів різного походження та структури, що впливають на функцію імунної системи. Так, імуномодуюча функція матеріалів на основі графену вважається ключовим чинником, що впливає на регенерацію тканин. Описано застосування графену у тканинній інженерії кісток, нейронів, шкіри та серцево-судинної системи, підкреслюючи, що імуномодуючі функції графену значно покращують регенерацію тканин. Графен опосередковує регуляцію запальної відповіді вроджених імунних клітин. Під час процесу загоєння численні імунні реакції, такі як запальна відповідь, реакція на стороннє тіло, фіброз тканини та біодеградація графену, є взаємопов'язаними та впливовими для покращення загоєння ран і регенерації тканин в тканинній інженерії [122].

Однак, найбільший інтерес становлять речовини природного походження, враховуючи їх безпеку та відсутність токсичної дії. До таких препаратів відносяться пептиди, виділені, перш за все, з тимусу, оскільки тимусу належить ведуча роль у регуляції системи імунітету, гемостазу та регенерації тканин [123]. Так, введення тималіну на тлі важкого ступеню загального зневоднення організму покращує остеобласти мікропроцесів регенерації великогомілкової кістки, сприяє істотному поліпшенню структурно-функціонального стану кісткового мозоля, що дозволило рекомендувати його для лікування ушкоджень опорно-рухового апарата [124].

Біоактивні пептиди відомі своєю високою спорідненістю до тканин, специфічністю та ефективністю у зміцненні здоров'я. У наш час біологічно

активні пептиди виділені практично з усіх внутрішніх органів. Проведені дослідження свідчать, що ці речовини володіють гомеостатичним та репаративним впливом. При цьому, система біологічно активних пептидів бере участь в регуляції практично всіх біохімічних реакцій організму та представлена величезною кількістю регуляторних сполук [125,126].

Розроблено технологію виділення поліпептидних комплексів з різних органів і тканин молодих тварин. Першим пептидним препаратом, створеним за цією технологією, був поліпептидний комплекс, виділений із тимусу телят – тималін, визнаний класичним стимулятором клітинного імунітету. Препарат нормалізує функції імунної системи та стимулює процеси регенерації та кровотворення при їх пригніченні. Тималін застосовують при лікуванні різних захворювань, пов'язаних з порушенням функції імунної системи у дітей і дорослих (гострі та хронічні вірусні та бактеріальні інфекції, інфекційні гнійно-септичні процеси, порушення процесів регенерації в післятравматичному та післяопераційному періодах тощо [127]. Також визнано перспективним використання препаратів тимусу для корекції стресового стану через наявність центральної заспокійливої дії [128]. Було показано, що стресові розлади тісно пов'язані з остеопорозом і підвищеним ризиком переломів [129]. Тималін виявляє імуностимулюючу дію в умовах експериментального емоційного стресу [130].

Необхідно відмітити повну відсутність алергічних реакцій та інших побічних ефектів у пацієнтів при застосуванні тималіну, а також при його повторних курсах [131].

Наведено дані щодо застосування пептидних біорегуляторів клітинного гомеостазу та захисних функцій організму при різноманітних стоматологічних захворюваннях і патології органів, і тканин ЩЛД [132]. Так, доведена ефективності застосування пептидного комплексу тимусу - тималіну в комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит середнього ступеня тяжкості [133,134]. Узагальнено досвід локального

застосування імуномодуляторів, у тому числі тималіну, у комплексному лікуванні захворювань пародонта. Показано перевагу локального застосування імуномодуляторів над іншими способами їх введення [135].

Досить часто наявність хронічного періодонтиту є причиною видалення зубів із виникненням одонтогенного запального процесу, переважно в ранньому післяопераційному періоді. Наявність хронічних осередків інфекції впливає на рівень неспецифічної резистентності, особливо на місцевому рівні, що сприяє сенсibiliзації організму з поширенням патологічного процесу на органи і системи організму, особливо в осіб з іншими хронічними захворюваннями [136,137]. Також встановлений зв'язок емоційних розладів як можливих факторів ризику хронічного періодонтиту [138].

Існує три стадії перебігу періодонтиту: інфекція, запалення та руйнування тканини, де кожна стадія має свої особливості, а отже, і свій напрям лікування. На ранніх стадіях регенерації кісткової тканини гостра запальна реакція є критичною, оскільки при хронічних періодонтитах формується феномен автоімунної відповіді із розвитком цитотоксичної реакції в періапікальних тканинах, що супроводжується лакунарною резорбцією кісткової тканини, зменшуючи об'єм і міцність кісток [2,139]. Ткаченко ВМ. та співавт. (2013) 8 хворим на цукровий діабет 2 типу з хронічним періодонтитом проводили комплексне лікування з використанням місцевої ін'єкції тималіну у перехідну складку в проєкції верхівки ураженого зуба щоденно протягом 2-3 днів. Після завершення курсу лікування бактерицидна активність лізоциму в ротовій рідині хворих підвищилась у 1,7 рази, як і рівень секреторного імуноглобуліну А, відновлювалась кількість CD4+ та CD8+ лімфоцитів, що могло свідчити про посилення місцевого імунологічного захисту. Тобто, застосування тималіну призвело до підвищення імунологічного потенціалу на місцевому рівні, сприяючи покращенню результатів лікування пацієнтів [140].

Таким чином, проблема корекції функції імунної системи при дефектах нижньої щелепи різних ушкодженнях залишається вкрай актуальною. Під час процесу загоєння численні імунні реакції є взаємопов'язаними та впливають на загоєння ран і регенерацію тканин. Розуміння цих концепцій відкриє нові можливості для сприяння регенерації кісткової тканини та запобігання втраті її цілісності, спричиненої ушкодженням. Наведені дані свідчать, що застосування імунокорегуючого засобу тималіну призводить до підвищення імунологічного потенціалу на місцевому рівні, сприяючи покращенню результатів лікування пацієнтів.

1.5. Основні біохімічні показники в кістковій тканині при остеогенезі

За даними деяких науковців, ротова порожнина є відкритим біотопом, де розташовується мікроекологічна система, формується захисна біоплівка, та здійснюється імунна відповідь організму як на локальному, так і на системному рівнях [141].

Відомо, що ротова рідина – це середовище для органів порожнини рота, саме її хімічний склад впливає на стан зубів, слизову оболонку рота. Виділяють слину різного хімічного складу: привушні (серозний секрет), нижньощелепні та під'язикові залози (змішаний секрет з високим вмістом захисного муцину). Піднижньощелепні слинні залози синтезують більш 70 % слини, гранулоцити синтезують як слиз, так й білкову складову секрету. Крім того відомо, що гранулоцити синтезують гормони та гормоноїди, фактори росту тощо. Ці біологічно активні речовини необхідні для функціонування організму. Секреторна функція залоз здійснюється за умов функціонування симпатичної та парасимпатичної систем, регулюється гормонами [142].

У ротовій порожнині утворюється ротова рідина, де присутні епітеліальні клітини, лейкоцити, мікробіота, також продукти життєдіяльності мікроорганізмів, залишки їжі [143].

Склад ротової рідини залежить від впливу ряду зовнішніх факторів і внутрішнього стану організму [144].

Ротова рідина виконує значну біологічну роль. З сучасної наукової літератури відомо, що однією з функцій ротової рідини є її захисна дія: синтезувати захисні ферменти, секреторний імуноглобулін (sIgA), муцин, інгібітори протеїназ, фактори згортання крові тощо. Захисна роль ротової рідини відображується у зволоженні тканин ротової порожнини, очищенні слизової оболонки від злушеного епітелію, залишків їжі, дії ферментів. Завдяки слині відбувається функціонування захисного бар'єру з муцину – глікопротеїну, лізоциму, антимікробних факторів та антитіл.

Важливу захисну функцію в ротовій порожнині відіграють глікопротеїни - імуноглобуліни, зокрема sIgA, який синтезується місцево плазмоцитами підслизового шару міндалін та клітинами Lamino propria, відповідає за формування місцевого імунітету слизової оболонки, здійснює захист від патогенних мікроорганізмів [145,146]. Відомо, що sIgA може потрапляти з крові до ротової порожнини через ясеневий жолобок. Найбільше sIgA синтезується привушними залозами. SIgA слини має більшу молекулярну масу, ніж IgA плазми крові. Молекули sIgA мають 4 ланцюга, що з'єднуються у димер за допомогою секреторного компоненту, який надходить у незв'язаній формі. Цей клас імуноглобулінів є високо стійким до дії ферментів протеаз, що руйнують пептидні зв'язки, не ушкоджує слизову оболонку ротової порожнини та має антиадгезивний вплив, що забезпечує антибактеріальні, антивірусні та антиалергійні властивості, попереджує розвиток карієсу зубів [147]. Визначення вмісту sIgA в ротовій рідині і є показником імунобіологічної реактивності організму.

Також, з даних літератури відомо, що sIgA посилює фагоцитоз, активність лімфоцитів у слизових оболонках, зокрема в ротовій порожнині [148].

Значна роль у регуляції мінерального обміну притаманна кислій та лужній фосфатазам ротової рідини. Ці ферменти в порожнині рота виконують не тільки традиційну функцію – гідроліз органічних фосфатів, а й ініціюють процес кальцифікації, беруть участь у фосфорно-кальцієвому обміні, забезпечують мінералізацію зубів [148].

Стан метаболізму в кістковій тканині визначали за активністю лужної фосфатази – маркеру функціонування остеобластів і кислої фосфатази як біохімічного показника інтенсифікації діяльності остеокластів у слині.

У відповідь на змодельований дірчастий дефект кісткової тканини нижньої щелепи відбувається реакція організму як на місцевому, так й на системному рівні за умов впливу зовнішнього фактору. Спостерігається вивільнення з запальних клітин, мікроорганізмів, клітин сполучної тканини таких біохімічних маркерів стану кісткової тканини, як лужної та кислої фосфатази [149].

Дуже важливо для подальшого визначення активності саме цих індикаторних показників у ротовій рідині та біоптатах кісткової тканини.

Відомо, що ЛФ – важливий біохімічний маркер, який міститься в остеобластах, фібробластах, нейтрофілах, є необхідним для формування кісткової тканини [150].

Саме лужна фосфатаза вивільняється з остеобластів під час формування кісток, фібробластами – під час регенеративних процесів [151].

За умов вирішення завдань до нашого дослідження виникає практичний інтерес щодо вивчення біохімічних маркерів формування кісткової тканини та швидкості «кісткового обороту» у нижньощелепних кістках за умов моделювання дірчастого кісткового дефекту та застосування різних методів лікування. Відомо, що кісткова тканина є динамічною структурою, що постійно оновлюється. Метаболічні процеси в кістковій

тканині контролюється багатьма локальними та системними факторами [151], на які впливають цитокіни, фактори росту, гормони та інші біологічно активні речовини.

У здоровому організмі метаболічна активність процесу побудови кісткової тканини зумовлена резорбцією старої кістки за умов дії остеокластів, та формуванням нової кістки за умов роботи остеобластів. Під впливом різноманітних факторів можливе порушення балансу між резорбцією та репаративним остеогенезом. Тому в нашій роботі ми застосовували різні лікувальні заходи для впливу на репаративний остеогенез в умовах змодельованого дірчастого дефекту кісткової тканини нижньої щелепи.

Одним з найпоширених основних неколагенових вітамін кальцію залежних білків позаклітинного матриксу кісткової тканини є остеокальцин, який синтезується та специфічно експресується остеобластами під час синтезу остеоїду. Має високу спорідненість до іонів кальцію шляхом приєднання карбоксильної групи до глутамату. Мінералізується з утворенням нової кісткової тканини, вбудовується у кістковий матрикс, а частина, що залишилася, потрапляє до крові та відображує пізню стадію остеогенезу. За умов протікання процесів резорбції при дії остеокластів, цей протеїн вивільняється з матриксу та у вигляді неімуних фрагментів потрапляє до крові. На вміст остеокальцину в сироватці крові впливають гормони, що регулюють рівень кальцію в крові, а саме паратгормон, кальцитонін, кальцитріол $-1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [153,154]. Основна функція остеокальцину - синтез гідроксиапатитів як основного мінерального компонента кісткової тканини.

Останні дослідження показали значну роль остеокальцину не тільки в метаболічних процесах у кістковій тканині, що постійно оновлюється та знаходиться під впливом різноманітних локальних і системних факторів

[141]. Остеокальцин має широкий спектр позакісткових ефектів. Відомо, що остеокальцин має регуляторну функцію, впливає на метаболізм всього організму, репродуктивні процеси, когнітивні функції [155]. Однак, останні експериментальні дані вказують на регуляторну роль остеокальцину, що зв'язує енергетичні потреби кісткової тканини з гомеостазом. На теперішній час відомо, що цей білок має гормональну активність, а саме регулює обмін глюкози, масу скелетних м'язів, стимулює синтез тестостерону, впливає на функціонування головного мозку, сприяє парасимпатичному тону центральної нервової системи. На теперішній час найбільш досліджена його участь у регуляції вуглеводного, ліпідного та енергетичного обмінів. Таким чином, остеокальцин відіграє інтегративну роль, пов'язує між собою кісткову тканину, підшлункову залозу, статеві ендокринні залози, головний мозок та відділи нервової системи [156].

У циркулюючій крові загальний остеокальцин представлений карбоксильованою та некарбоксильованою формами, при чому останній є більш активною біологічною формою. Некарбоксильований остеокальцин регулює різні метаболічні функції, зокрема обмін вуглеводів і ліпідів. [157].

Шляхом γ -карбоксилювання під впливом γ -глутамілкарбоксилази та вітаміну К як коферменту карбоксилювання, некарбоксильований остеокальцин, що має походження з остеобластів, перетворюється на карбоксильовану форму [158]. Сполука γ -карбоксильованого остеокальцину здатна зв'язуватися з іонами кальцію і включати їх у кристали гідроксиапатиту.

Відомо, що зрілий остеокальцин секретується у мікрооточення кісток, зазнає конформаційних змін, регулює якість кісткової тканини шляхом вирівнювання його кальцій зв'язуючих залишків у біологічному гідроксиапатиті паралельно колагеновим фібрилам, що дозволяє цьому білку

індукувати утворення кристалів гідроксиапатиту. Однак, на сучасному етапі розвитку науки, роль цього білка залишається незрозумілою [159].

Таким чином, циркулюючий остеокальцин є центральним маркером мінералізації кісток, регулятором мінеральної щільності кісткової тканини. Існують дані, що карбоксильований остеокальцин за принципом зворотного зв'язку бере участь у регуляції активності остеокластів та остеобластів. У науковій літературі існують дані щодо визначення остеокальцину саме як біохімічного сироваткового маркеру формування кісток остеобластами. Відома також його дія на кісткову матрицю як регулятора процесів мінералізації. Саме вміст остеокальцину в крові є біохімічним індикатором протікання метаболічних процесів у кістковій тканині, маркером формування кісткової тканини.

Вельми актуальним питанням у ЩЛХ є визначення активності процесів репаративного остеогенезу, процесів резорбції, мінералізації кісткової тканини при багатьох патологічних станах [160].

Вивчення цих питань допоможе лікарю-хірургу запропонувати нові підходи до корекції метаболічних порушень у кістковій тканині. Відомо, що у процесах резорбції та регенерації кісткової тканини приймають участь ензими, зокрема ЛФ і КФ [161]. Ці ферменти також беруть участь в регуляції фосфорно-кальцієвого обміну, та безпосередньо впливають на метаболічні процеси в кістковій тканині [162].

Лужна фосфатаза міститься в остеобластах, каталізує реакції перенесення залишків фосфорної кислоти від ефіру до органічного матриксу кісток і приймає безпосередню участь у процесах мінералізації, є біохімічним індикатором кісткоутворення [163].

Тому, одним з важливих біохімічних маркерів диференціювання остеобластів і відображення процесів формування кісткової тканини є

визначення активності ферменту ЛФ, що виділяється остеобластами та бере участь у мінералізації остеоїдів [164,165].

Висновки до розділу

Дефекти нижньої щелепи, що вимагають реконструкції, зустрічаються досить часто та зазвичай виникають внаслідок вроджених деформацій, запальних процесів, онкологічних захворювань, проведених хірургічних стоматологічних втручань, травматичних ушкоджень, зокрема вогнепальних поранень. Доведено, що серед структур щелепно-лицевого комплексу нижня щелепа ушкоджується найчастіше.

При видаленні зуба неминучим є ушкодження альвеолярної кістки. При цьому горизонтальна втрата кісткової тканини найчастіше відбувається швидше та більше порівняно з вертикальною втратою кісткової тканини, що призвело до розробки кількох методів горизонтальної кісткової аугментації, таких як GBR, розширення альвеолярного гребеня, дистракційний остеогенез і блокові трансплантанти.

Корекція втрати цілісності кісткової тканини після видалення зуба, ураження пародонту або травми здійснюється шляхом аугментації з використанням різноманітних біоматеріалів, що використовуються для заповнення кісткових дефектів. Сучасні дослідження зосереджені на вивченні шляхів підготовки та використанні різних типів людських або ксеногенних матеріалів та їх остеогенних властивостей.

В експериментальних і клінічних дослідженнях було оцінений остеогенний потенціал кістковозаміщуючих матеріалів і шляхи посилення їх остеоіндуктивних та остеокондуктивних властивостей для усунення дефектів нижньої щелепи. При цьому, встановлено необхідність корекції функції імунної системи при відновленні дефектів кісткової тканини при різних ушкодженнях, оскільки численні імунні реакції є взаємопов'язаними та впливають на загоєння ран і регенерацію тканин. Вважається, що розуміння

цих особливостей відкриє нові можливості для сприяння регенерації кісткової тканини та запобігання втрати її цілісності.

Наведені дані свідчать, що застосування імунокорегуючого засобу тималіну призводить до підвищення імунологічного потенціалу на місцевому рівні, сприяючи покращенню результатів лікування пацієнтів, але переважно з пародонтальною патологією. При цьому, вплив тималіну на репаративний остеогенез складних кісткових дефектів нижньої щелепи остаточно не встановлений, що потребує подальших поглиблених досліджень.

Дослідження основних біохімічних маркерів sIgA ротової рідини, ЛФ і КФ у ротовій рідині, вміст остеокальцину в крові, активність процесів репаративного остеогенезу процесів резорбції, зокрема ЛФ і КФ у біоптатах та індексу мінералізації. Вивчення цих питань допоможе запропонувати нові підходи для корекції метаболічних порушень у кістці.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Характеристика експериментального матеріалу

Дослідження *in vivo* проводилося на 78 сертифікованих лабораторних щурах лінії WAG вагою 160-300 гр, без зовнішніх ознак будь-якого запалення з віварію Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Тварини отримували однакове стандартне харчування та утримувалися в однакових умовах.

Під час роботи з лабораторними тваринами керувалися Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006), Методичними рекомендаціями про використання тварин у біомедичних дослідженнях [Стефанов О.В., 2002], із дотриманням етичних норм Директиви № 86/609/ЕС. Дослідження було затверджено Біоетичним комітетом з питань людини або дослідженням тварин у Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця (протокол № 181 від 29.01.2024).

Для експериментального дослідження загальна кількість тварин склала 78. Для біохімічного дослідження було взято 30 щурів, які поділенні на п'ять груп: з однаковою кількістю тварин ($n=6$).

До контрольної групи увійшли 6 інтактних щурів, до 1-ої – щури, яким було змодельовано дірчастий дефект нижньої щелепи діаметром 3мм, до 2-ої групи – тварини, у яких кістковий дефект нижньої щелепи заповнювали гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом «Біомін ГТ». До 3-ої групи увійшли щури з дірчастим дефектом нижньої щелепи з ін'єкцією тималіном в оточуючі м'які тканини, до 4-ої – з дірчастий дефект

заповнений остеотропним матеріалом «Біомін ГТ» та ін'єкцією тималіном у оточуючі м'які тканини.

Для морфологічного та імуногістохімічного дослідження було взято 48 щурів, які були поділенні на чотири групи: з однаковою кількістю тварин (n=12):

- 1) до першої групи – щури з модельованим дірчастим дефектом нижньої щелепи (рис. 2.1).

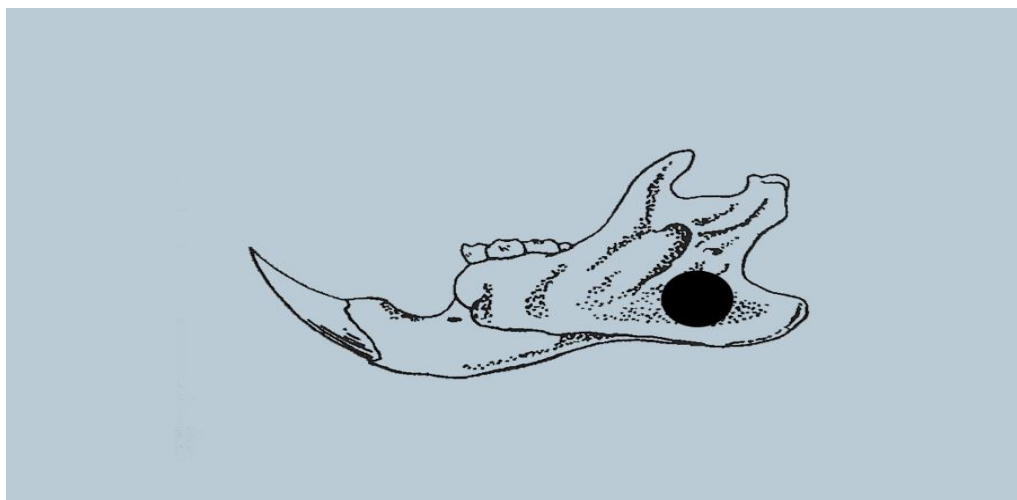


Рис. 2.1. Схема експериментально змодельованого дефекту нижньої щелепи щура

- 2) до другої групи – тварини з модельованим дірчастим дефектом нижньої щелепи з подальшим його закриттям гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом «Біомін ГТ» (рис. 2.2).



Рис. 2.2. Схема експериментально змодельованого дефекту нижньої щелепи з подальшим його закриттям гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом «Біомін ГТ»

- 3) до третьої групи – увійшли щури з модельованим дірчастим дефектом нижньої щелепи з ін'єкцією оточуючих м'яких тканин тималіном (рис.2.1)

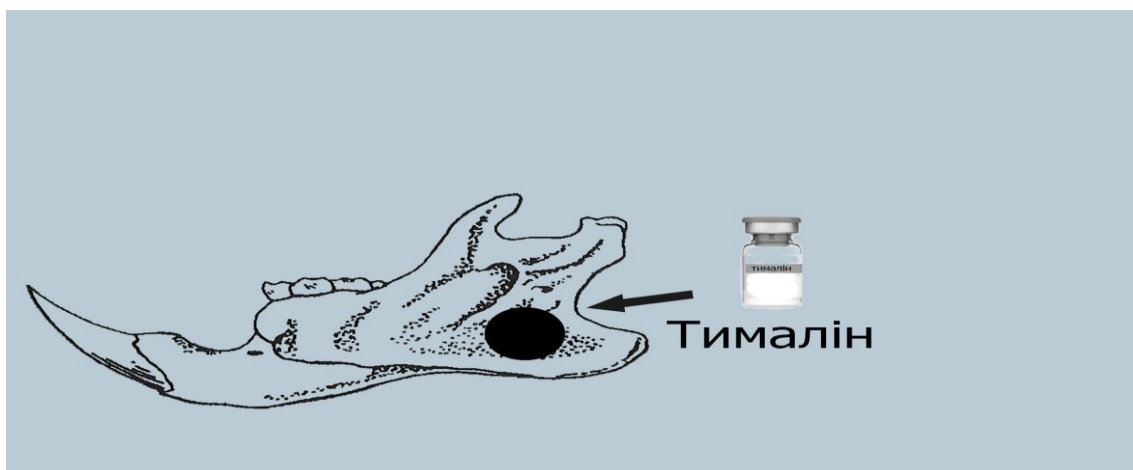


Рис. 2.1. Схема експериментально змодельованого дефекту нижньої щелепи з ін'єкцією навколишніх м'яких тканин тималіном

4) до четвертої групи – тварини з модельованим дірчастим дефектом нижньої щелепи з подальшим його закриттям гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом «Біомін ГТ» та ін'єкцією оточуючих м'яких тканин тималіном (рис. 2.4).

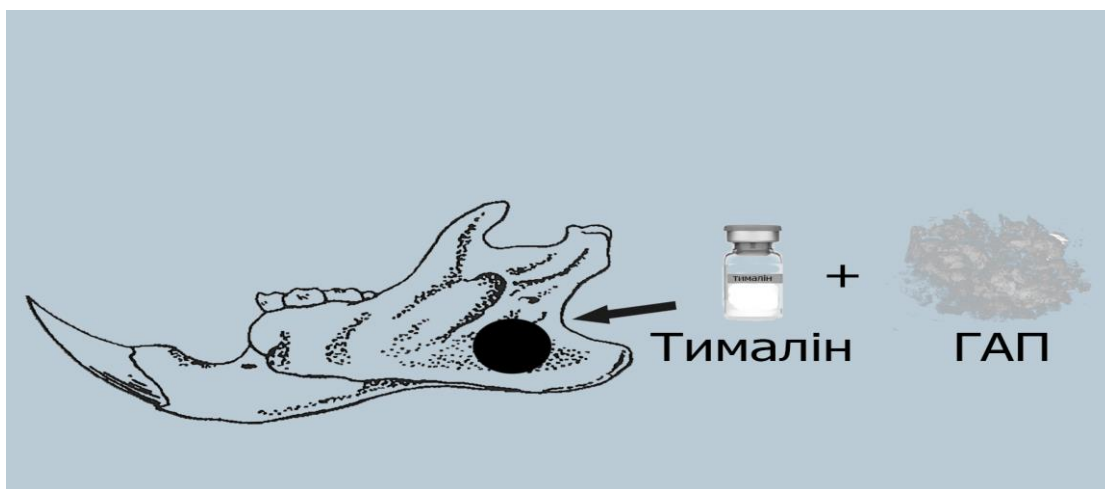


Рис 2.4. Схема експериментально змодельованого дефекту нижньої щелепи з подальшим його закриттям гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом «Біомін ГТ» та ін'єкцією навколишніх м'яких тканин тималіном

Тварини були піддані евтаназії на 3-тю, 7-му, 14-ту, 28-му добу (3-4 тварини на кожен період), шляхом введення летальної дози тіопенталу натрію (200 мг на кг).

Забраний матеріал використовували для морфологічного та імуногістохімічного та біохімічного дослідження, виявлення морфологічних особливостей репаративного остеогенезу в кістці нижньої щелепи щурів та маркерів метаболізму, маркерів ремоделювання кісткової тканини (лужної та кислої фосфатаз, остеокальцину, визначення індексу мінералізації) за умов заповнення кісткового дефекту гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом "Біомін ГТ" та ін'єкції оточуючих м'яких тканин тималіном.

2.2. Біохімічне дослідження при усуненні дефектів нижньої щелепи в умовах впливу на репаративний остеогенез

Одним з неінвазивних методів оцінки місцевого стану ротової порожнини та загального стану організму є дослідження такого біологічного матеріалу як ротова рідина [166]. Забір ротової рідини – це процедура дуже проста, яка не потребує багато часу, зусиль, а головне – безболісна для експериментальних тварин. Однак, дослідження основних біохімічних складових ротової рідини, зокрема секреторного імуноглобуліну (sIgA), лізоциму, захисних ферментів, муцину, специфічних біохімічних індикаторів метаболічного стану кісткової тканини, зокрема процесів репаративного остеогенезу відображає стан організму та вміст біологічно активних речовин у крові [167].

Завдяки існуючим сучасним технологіям і методикам, для дослідження вмісту біологічно активних речовин необхідні мікрокількості біологічного матеріалу [168].

Враховуючи, що дірчастий кістковий дефект змодельовали на нижній щелепі, для нашого дослідження в якості одного з біологічних матеріалів ми обрали саме ротову рідину.

Ротову рідину в експериментальних тварин збирали після стимуляції слиновиділення. Для цього використовували розчин лимонного соку, який готували у співвідношенні 11 мл дистильованої води на 0,1-0,2 мл соку. Спочатку щура погладжували та заспокоювали. Далі експериментальну тварину брали за шкіру в ділянці потилиці, фіксували голову та передні кінцівки щура правою рукою, а лівою утримували задні кінцівки та хвіст. Переміщували щура в горизонтальне положення, а саме лапами догори. Ротову порожнину фіксованої тварини розкривали дерев'яною лопаткою та капали медичною піпеткою розчин лимонного соку. Через хвилину вводили наконечник спринцівки (об'ємом 30 мл) у ротову порожнину під язик, при

чому балон спринцівки був стиснутим. Наконечник спринцівки встановлювали на слизовій оболонці ротової порожнини в ділянці проекції вивідного отвору протоки під'язичної слинної залози. Балон спринцівки розтискали, таким чином ротова рідина потрапляла до балона спринцівки [169].

Ротову рідину зберігали у стерильних пробірках у боксі (-4°C) для транспортування, далі центрифугували 10 хвилин з використанням центрифуги Universal 320R. Зразки зберігали при температурі -51 °C у епіндорфах.

Відомо, що одним з основних показників стану гуморального імунітету в ротовій порожнині є IgA, що синтезується плазматичними клітинами. Існує IgA у різних за будовою формах - IgA₁ (90 %) та IgA₂ (10 %). Причому відомо, що IgA₂ синтезується В-клітинами, що знаходяться на слизових оболонках, зокрема ротової порожнини. Імуноглобулін А сприяє формуванню місцевого імунітету та має сироваткову й секреторну фракції.

Концентрацію sIgA у ротовій рідині експериментальних тварин визначали конкурентним імуноферментним колориметричним методом за допомогою набору « IgA Saliva ELISA» (Diametra, Italy). Принцип методу: визначення вмісту sIgA базується на використанні «сендвіч» - варіанта твердофазного ІФА. Слину в кількості 100 мкл вносили в кожен альвеолу планшету, інкубували протягом 90 хвилин при температурі 37°C. Зразки додавали до 100 мкл розчину для визначення біотинільованих антитіл щурів, для цього інкубували протягом 60 хвилин при 37°C та аспірували. На наступному етапі стрептавідин-HRP додавали до кожного планшета з альвеолами та інкубували протягом 30 хвилин при 37°C. Далі додавали 90 мкл розчину субстрату 3,3',5,5'-тетраметилбензидину та інкубували при 37°C протягом 15 хвилин перед додаванням 50 мкл стоп-розчину. Під час інкубації з розчином субстрату тетраметилбензидину спостерігалося фарбування розчину, далі розчин зразка зчитували на рідері ELISA з

довжиною хвилі 450 нм. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації sIgA. Оптичну щільність вимірювали на полуавтоматичному імуноферментному аналізаторі STAT-FAX 303⁺.

Для оцінки протікання метаболічних процесів у кістковій тканині ми досліджували в ротовій рідині та біоптатах кісткової тканини нижньої щелепи щурів активність фосфатаз, а саме ферментів, що каталізують процес відщеплення фосфорної кислоти від органічних ефірних сполук - активність лужної та кислої фосфатаз.

Лужна фосфатаза (ЛФ) відіграє важливу роль у процесах мінералізації твердих тканин зуба, кісткової тканини, гідролізує ортофосфорні моноєфіри та до органічних субстратів приєднує фосфор. Коферментами в зазначених реакціях є іони Mg^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} . Цей фермент міститься в усіх тканинах організму, особливо високий вміст ЛФ в кістковій тканині.

Для визначення активності лужної фосфатази використовували набір реагентів «Гранум» Україна, м. Харків. Принцип методу: можливість ЛФ ротової рідини за визначених умов каталізувати гідроліз паранітрофенілфосфату при рН=10,4. Паранітрофенол у лужному середовищі перетворюється до п-нітрофенолу та фосфату. Інтенсивність жовтого забарвлення відображає активність ферменту. Визначення активності ЛФ проводили шляхом фотоколориметрування при довжині хвилі 405 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм проти відповідного контролю. Розрахунок результатів проводили за формулою: 1.1

Формула 1.1

$$X = \Delta E / \text{хв.} \cdot 3300;$$

де X – активність лужної фосфатази в дослідженому зразку;

ΔE – зміна оптичної щільності за хвилину;

3300 – для перерахунку у Од/л;

Одиниці вимірювання ЛФ у ротовій рідині - Од/л. Для визначення оптичної щільності використовували спектрофлюориметр Solar PV 1251B.

Активність загальної **кислої фосфатази** (КФ) у ротовій рідині та біоптаті кісткової тканини нижньої щелепи експериментальних тварин визначали відповідно інструкції до набору реагентів «Гранум» Україна, м. Харків. Принцип методу: активність кислої фосфатази визначали модифікованим методом Хілмана: формула 2.2

Формула 2.2

Альфа-нафтилфосфат + H₂O → α-нафтол + фосфат;

α-нафтол + FRTR-сіль → забарвлена речовина;

Одиниці вимірювання КФ у ротовій рідині - Од/л. Оптичну щільність визначали при довжині хвилі – 405 нм у відповідній кюветі з товщиною оптичного шару 10 мм. Розрахунок результатів проводили за формулою: 2.3

Формула 2.3

$$\text{КФ загальна} = \Delta E / \text{хв} \cdot 750,$$

де $\Delta E / \text{хв}$ – різниця між поглинанням і середнім поглинанням з різницею у хвилину,

750 - для перерахунку у Од/л;

Для визначення оптичної щільності зразків використовували спектрофлюориметр Solar PV 1251В.

Сироватку крові отримували збирали цільну кров з хвостової вени щурів або при декапітації у пробірки. Протягом 30 хв. при кімнатній температурі відбувався процес згортання, далі центрифугували при 1000 g протягом 10 хвилин з використанням центрифуги Universal 320R. Потім сироватку крові відокремлювали від згустку та збирали в епіндорфи. Зразки зберігали при температурі -51°C.

Одним з дуже важливих показників стану кісткової тканини є специфічний остеокальцин – неколагеновий білок, що в основному міститься в кістках і дентині зубів [170].

У подальшому експерименті згідно завдань дослідження визначали в крові вміст остеокальцину як біохімічного маркера процесу формування

кісткової тканини, використовували отримані показники для оцінки активності остеобластів та репаративного остеогенезу нижньої щелепи.

Для визначення вмісту специфічного остеокальцину в крові щурів застосовували імуноферментний метод зі застосуванням набору реактивів «IBL International» (Німеччина). Принцип методу полягає у двосекційній «сандвіч» техніки з двома виділеними антитілами, що зв'язуються з остеокальцином. Стандарт і зразки крові щурів додавали в альвеолу мікропланшету (96 альвеол) з покриттям стрептавідину. Отримували суміш біотинільованого остеокальцину специфічного поліклонального антитіла. Далі мічений пероксидазою остеокальцин додавали до кожної альвеоли. Проводили інкубацію остеокальцин - HRP - моноклональне антитіло, згодом утворювався імунний комплекс. Моноклональні антитіла, що не зв'язалися, видалялися на стадії промивання. Розчин субстрату вимірювали в спектрофотометричному рідері мікропланшету. Будували стандартну криву шляхом нанесення абсорбції проти відповідної концентрації. Одиниці визначення вмісту остеокальцину в крові – нг/мл.

Біохімічні показники стану кісткової тканини визначали також у біоптатах кісткової тканини нижньої щелепи. Отримували кісткові біоптати з нижньої щелепи, готували гомогенати, використовували трис-НСІ- буфер (рН=8,0). Розтирали отриманий зразок біоптату кісткової тканини нижньої щелепи з розрахунку 1 мл буферу на 100 мг кісткової тканини у порцеляновій ступці з кварцевим піском у співвідношенні 1:1. Гомогенати центрифугували при 3000 об/хв. протягом 15 хв. з використанням центрифуги Universal 320 R.

У супернатантах після центрифугування визначали активність лужної фосфатази – маркеру формування кісткової тканини та кислої фосфатази – біохімічного маркеру резорбції кісткової тканини за методом А. П. Левицького та співавт. (1973) [171]. Принцип методу: за умов дії досліджуваного ферменту п-нітрофенілфосфат натрію гідролізується до п-

нітрофенолу, що має жовтий колір. Інтенсивність забарвлення свідчить про активність ферменту. Для визначення оптичної щільності використовували спектрофлюориметр Solar PV 1251В.

Далі визначали індекс мінералізації кісткової тканини шляхом підрахунку співвідношення значень активності ЛФ до КФ, яке виражали в умовних одиницях (у.о.) [172].

Статистичний аналіз проводили з використанням комп'ютерного програмного забезпечення «Statistica 6.1» (Stat Soft. Inc. США), «GraphPad Prism 5». Розподіл вибірок закону нормального розподілу перевіряли за критерієм Шапіро-Вілка. Порівняння центральних тенденцій у незалежних групах проводили за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні. Числові дані представляли у вигляді непараметричних характеристик: медіани вибірки (Me) та міжквартильного діапазону (значення 25-го та 75-го процентилів). Відмінність між групами враховувалась значущим при $p < 0,05$.

2.3. Морфологічне дослідження при усуненні дефектів нижньої щелепи в умовах впливу на репаративний остеогенез

Було проведено експеримент на 48 щурах-самцях популяції WAG у віці 6-8 місяців, масою 250-300 гр. на базі експериментально-біологічної клініки Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Експериментальні тварини було розподілено на 4 групи.

До групи 1-ої увійшло 12 тварин, яким моделювали дірчастий дефект кута нижньої щелепи діаметром 3мм.

До групи 2-ої увійшло 12 тварин, яким моделювали подібний до групи 1 дірчастий дефект кута нижньої щелепи з подальшим його заповненням синтетичним кістковим трансплантатом «Біомін ГТ» (РАПІД, Україна), до складу якого входять гідроксиапатит та β -трикальцій фосфат.

До групи 3 було віднесено 12 тварин, яким моделювали подібний до груп 1 і 2 дірчастий дефект кута нижньої щелепи з подальшими ін'єкціями в оточуючі м'які тканини тималіном (ТОВ «ФЗ «БІОФАРМА», Україна).

До групи 4 було віднесено 12 тварин, яким моделювали подібний до груп 1-3 дірчастий дефект кута нижньої щелепи з подальшим його заповненням синтетичним кістковим трансплантатом «Біомін ГТ» (РАПД, Україна) та обколювання оточуючих м'яких тканин тималіном (ТОВ «ФЗ «БІОФАРМА», Україна).

У групах 1-4 тварини були виведені з експерименту на 3-тю, 7-му, 14- ту та 28-му добу (по 3 тварини на кожний експериментальний період).

Матеріалом для морфологічного дослідження були фрагменти нижньої щелепи щурів з ділянки змодельованого дірчастого дефекту. Матеріал фіксували в 10% розчині формаліну. Ущільнення тканин, фіксованих у формаліні, досягалося проведенням через спирти зростаючої концентрації, розчин Нікіфорова (96 % спирт та діетиловий ефір у співвідношенні 1:1), хлороформ і заливали у парафін. З виготовлених блоків були зроблені серійні зрізи товщиною $4-5 \times 10^{-6}$ м для забарвлення гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за ван Гізоном.

Дослідження виготовлених мікропрепаратів були проведені на кафедрі загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету (завідувач кафедри, д.мед.н., професор М.С. Мирошніченко) за допомогою мікроскопів ZEISS Primostar 3 (Carl Zeiss, Німеччина) з вбудованою кольоровою цифровою камерою, BRESSER Science TFM-301 Trino з камерою BRESSER Full HD (Bresser GmbH, Німеччина). За допомогою програми Labscope було проведено морфометричне дослідження, під час якого в кожному випадку в чотирьох полях зору визначали в пластинчатій кістковій тканині регенерату питомий об'єм кісткових трабекул (%); питомий об'єм міжтрабекулярного простору; питомий об'єм міжтрабекулярного простору, заповненого сполучною

тканиною (%), питомий об'єм міжтрабекулярного простору з вогнищами гемопоезу (%).

При дослідженні мікропрепаратів, забарвлених гематоксилином та еозином, у кожному випадку в чотирьох полях зору в кісткових трабекулах кісткової тканини, що оточувала дірчастий дефект, підраховували коефіцієнт яскравості в кольоровій моделі Lab за допомогою комп'ютерної програми «Аналіз кольорових властивостей растрових зображень» [173].

Імуногістохімічне дослідження було проведено на адгезивних скельцях Super Frost Plus ("Menzel", Німеччина). Використовували систему детекції Master Polymer Plus Detection (Peroxidase, хромоген ДАБ) (Master Diagnostica, Spain), для високотемпературної обробки епітопів антигенів цитратний буфер (pH 6,0), EDTA буфер (pH 8,0).

Імуногістохімічне дослідження проводили з використанням мишачих моноклональних антитіл до CD68 (клон KP-1, Master Diagnostica, Іспанія) (маркер клітин макрофагального ряду), CD20 (клон L26, Thermo Fisher Scientific, Великобританія) (маркер В-лімфоцитів), кролячих моноклональних антитіл до CD163 (клон EP324, Master Diagnostica, Іспанія) (маркер M2-макрофагів), CD86 (клон B7-2, Thermo Fisher Scientific, Великобританія) (маркер M1-макрофагів), CD3 (клон EP41, Master Diagnostica, Іспанія) (маркер Т-лімфоцитів).

Імуногістохімічні реакції з моноклональними антитілами до CD68, CD20 та CD3 оцінювали в кожному випадку в чотирьох полях зору шляхом підрахунку абсолютної кількості імунопозитивних клітин у полі зору мікроскопа $\times 400$, а реакції з антитілами до CD86, CD163 – шляхом підрахунку відносної кількості (%) імунопозитивних клітин у полі зору мікроскопа $\times 400$.

2.4. Статистичні дослідження

Статистичний аналіз проводили з використанням комп'ютерного програмного забезпечення «Statistica 6.1» (Stat Soft. Inc. США), «GraphPad Prism 5», PAST (версія 4.15, Музей природничої історії, Університет Осло, Норвегія). Розподіл вибірок закону нормального розподілу перевіряли за критерієм Шапіро-Вілка. Середні значення показників у групах порівнювали за допомогою t-критерію Стьюдента та U-критерію Манна-Уїтні. Порівняння центральних тенденцій у незалежних групах проводили за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні. Числові дані представляли у вигляді непараметричних характеристик: медіани вибірки (Me) та міжквартильного діапазону (значення 25-го та 75-го процентилів). Відмінність між групами враховувалась значущим при $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ОСНОВНІ БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ В БІОЛОГІЧНОМУ МАТЕРІАЛІ ЯК МАРКЕРИ МЕТАБОЛІЗМУ В КІСТКОВІЙ ТКАНИНІ ПРИ ОСТЕОГЕНЕЗІ

3.1. Визначення основних біохімічних показників в слині експериментальних тварин у різні строки дослідження

У результаті проведеного дослідження було визначено, що вміст sIgA у ротовій рідині щурів без втручання контрольної групи склав 22,60 [19,50; 28,85] мг/л. Отримані результати щодо вмісту sIgA в ротовій рідині всіх експериментальних тварин представлено в табл.3.1. При аналізі отриманих результатів встановлено, що вміст основного біохімічного маркера місцевого імунітету, а саме sIgA значно змінювався в ротовій рідині тварин усіх груп.

За результатами проведеного дослідження на третю та сьому добу виявлено статистично значуще зниження вмісту sIgA в ротовій рідині щурів після проведення змодельованого дірчастого дефекту нижньої щелепи без та з проведеним заповненням дефектів нижньої щелепи у порівнянні з цим показником у контрольній групі без втручання (табл.3.1). Практично однакове зниження вмісту sIgA у ротовій рідині щурів I-III експериментальних груп, а саме на 41,6 %, 42 %, 37,6 % відповідно спостерігалось на 3-тю добу експерименту. Вміст sIgA у ротовій рідині щурів IV групи на 3-ту добу був зниженим у порівнянні з контролем на 32,5 %, та на 15,5 % був вищим, ніж у тварин I групи.

Таблиця 3.1

Вміст секреторного IgA (мг/л) у ротовій рідині експериментальних тварин у різні строки експерименту Me [25%; 75%]

Доба дослідження	Перша група (n=6)	Друга група (n=6)	Третя група (n=6)	Четверта група (n=6)
3-тя	13,20 [8,55; 16,88]; p<0,05;	13,10 [8,62; 16,58]; p<0,005	14,10 [8,32; 17,28]; p<0,005	15,25 [11,60; 18,15]; p<0,005
7-ма	15,30 [9,00; 20,75]; p<0,05;	14,05 [8,77; 17,98] p<0,05	14,25 [11,08; 16,83]; p<0,005	17,05 [13,30; 19,80]; p<0,05
14-та	15,90 [10,20;19,65]; p<0,05;	15,20 [8,975;18,13] p<0,05;	16,05 [13,33; 17,78]; p<0,005	18,55 [16,33; 24,25];
28-ма	16,15 [11,13; 20,18]; p<0,05;	16,45 [10,10; 8,75] p<0,05	16,90 [14,38; 18,45] p<0,005	24,65 [19,78; 29,08]; p _{1,2,3} <0,05

Примітка: p- у порівнянні з показником у щурів контрольної групи; p₁- у порівнянні з показником у щурів 1-ої групи; p₂ - у порівнянні з показником у щурів 2-ої групи; p₃ - у порівнянні з показником у щурів 3-ої групи

На 7-му добу дослідження спостерігалось незначне підвищення вмісту дослідженого імуноглобуліну у ротовій рідині щурів I–IV груп, у порівнянні з 3-ою добою спостереження. Однак, ці показники залишалися ще статистично значно нижчими у порівнянні з показниками у щурів групи контролю: вміст sIgA у ротовій рідині щурів I–IV експериментальних груп був знижений на 32,3 %, 37,8 %, 36,9 % та 24,55 %, відповідно.

На 14-ту добу дослідження спостерігалось підвищення вмісту sIgA у ротовій рідині щурів, яким проводили закриття кісткового дефекту гідроксиапатитом й введенням у навколишні м'які тканини тималіну та практично дорівнювали цьому показнику у контрольній групі. Вміст sIgA у ротовій рідині щурів I–III груп залишався нижчим на 29,6 %, 32,7 %, 29,9 %, відповідно, у порівнянні з групою контролю. У щурів IV групи вміст sIgA в

ротовій рідині статистично значимо не відрізнявся від контролю та на 16,7% перевищував цей показник у щурів першої групи.

На 28-му добу експерименту спостерігали зростання вмісту sIgA в ротовій рідині щурів усіх груп у порівнянні з більш ранніми строками дослідження, однак тільки у щурів IV групи тільки цей показник підвищувався до значень у щурів контрольної групи (без втручання). А різниця вмісту sIgA між I та IV групами складала 52,6 %.

Таким чином, проведення змодельованого дірчастого дефекту нижньої щелепи у експериментальних тварин без та за умов проведеного лікування на третю та сьому добу досліджень спостерігався дефіцит sIgA в ротовій рідині, що свідчить про зниження функціонування гуморального імунітету. А саме, за умов зміни мікробіома в ротовій порожнині може відбуватися зниження місцевого імунітету слизової оболонки, порушення формування біоплівки, зниження захисту від патогенних мікроорганізмів і привести до запальних процесів в ротовій порожнині, розвитку карієсу зубів. Саме на 14-ту та 28-му добу дослідження тільки у щурів IV групи, за умов заміщення кісткового дефекту гідроксиапатитом та застосуванням ін'єкцій поліпептидного екстракту тимусу в м'які оточуючі тканини відбувалася нормалізація вмісту sIgA у ротовій рідині, що свідчить про позитивний вплив проведеного комплексного лікування із застосуванням тималіну та остеогенного гідроксиапатитвмісного матеріалу.

Лужна фосфатаза сприяє мінералізації кісток шляхом вивільнення органічного фосфату. Результати визначення активності лужної фосфатази в ротовій рідині експериментальних тварин наведені у табл. 3.2.

При аналізі отриманих результатів показано, що активність лужної фосфатази в ротовій рідині щурів контрольної групи складала - 12,90 [11,95; 15,58] Од/л.

Активність лужної фосфатази (ОД/л) у ротовій рідині експериментальних тварин у різні строки експерименту Me [25%; 75%]

Доба дослідження	Перша група (n=6)	Друга група (n=6)	Третя група (n=6)	Четверта група (n=6)
3-тя	26,05 [19,58; 29,33]; p<0,005;	27,25 [19,98; 29,65]; p<0,005	26,75 [20,88; 28,63]; p<0,005	26,20 [21,23; 30,73]; p<0,005
7-ма	23,80 [20,10; 26,38]; p<0,005;	23,25 [17,60; 25, 80] p<0,005	23,75 [19,28; 27,60]; p<0,005	21,25 [19,43; 23,40]; p<0,005
14-та	23,15 [19,30; 24,83]; p<0,005;	22,25 [16,78;24,70] p<0,005;	20,35 [18,28; 23,13]; p<0,005	16,20 [14,83; 17,23];
28-ма	22,00 [18,63; 23,63]; p<0,005;	20,95 [16,73; 23,93] p<0,05	19,60 [18,00; 20,75] p<0,005	14,90 [13,18; 16,83]; p ₁ <0,005; p _{2,3} <0,05;

Примітка: p- у порівнянні з цим показником у щурів контрольної групи; p₁- у порівнянні з показником у щурів першої групи; p₂ - у порівнянні з показником у щурів другої групи; p₃ - у порівнянні з показником у щурів третьої групи

При аналізі отриманих даних на третю добу дослідження в слині щурів усіх експериментальних груп спостерігається статистично значуще підвищення активності ЛФ від 102 до 111 %, відповідно.

На 7-му добу експерименту практично у всіх щурів дослідних груп спостерігалось незначне зниження активності ЛФ у порівнянні з отриманими результатами на 3-тю добу, а саме на 8,63-11,2 %. Найбільше зниження активності ЛФ спостерігалось у ротовій рідині щурів IV групи – на 18,9 %, однак цей показник залишався значимо вищим у порівнянні з активністю ЛФ у контрольній групі, а саме на 64,7 %.

На 14-ту добу визначали також незначне зниження активності ЛФ (на 2,7 -14,3 %) у ротовій рідині щурів у порівнянні з дослідженнями на 3-тю та

7-му добу, однак ці показники статистично значимо відрізнялися від цього показника у контрольній групі. Тільки у щурів, яким симулювали дірчастий дефект нижньої щелепи з подальшим його закриттям гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом та ін'єкціями тималіну в оточуючі м'які тканини спостерігалось значне зниження ЛФ у 1,62 рази в порівнянні з дослідженнями на 3-тю добу та цей показник практично дорівнював активності ЛФ у щурів контрольної групи. Різниця між отриманими результатами у щурів I та IV груп складала 30% (зниження у більшій мірі у щурів IV групи).

На 28-му добу експерименту активність ЛФ у ротовій рідині також незначно знижувалася у щурів I та II груп на 4,96 % та 5,84 % відповідно у порівнянні з цим показником на 14-ту добу та в цей строк дослідження ще значимо відрізнялася від контролю (на 70,5 % та 62,4 %).

У щурів III групи цей показник незначно знижувався (на 3,69%) у порівнянні з 14-ої добою дослідження та на 26,7 % у порівнянні з 3-ою добою спостереження.

Значне зниження активності ЛФ, а саме на 43,12 % спостерігалось у ротовій рідині щурів IV групи та цей показник дорівнював активності ЛФ у щурів контрольної групи.

Ми можемо свідчити, що визначення активності ЛФ у ротовій рідині може сприяти прогнозу перебігу репаративного остеогенезу при проведенні лікувальних заходів, а саме як при заповненні кісткового дефекту гідроксиапатитом і ін'єкцій тималіну. Підвищена активність ЛФ у ротовій рідині зумовлена значним її вивільненням із пошкоджених клітин м'яких і твердих тканин щелепи. Підвищення активності ЛФ може супроводжувати процеси пошкодження слизових оболонок ротової порожнини, свідчити про порушення цілісності тканин пародонту та вихід ЛФ з клітин сполучної тканини.

З наукової літератури відомо [149-151], що джерелом кислотої фосфатази є привушні слинні залози, лейкоцити і мікроорганізми. КФ активує процеси демінералізації тканин зубів, кісткової тканини та активує резорбцію тканин пародонту.

Активність кислотої фосфатази в ротовій рідині інтактних тварин складала 7,10 [5,69;8,725] Од/л.

Результати дослідження кислотої фосфатази в ротовій рідині експериментальних тварин відображено в табл. 3.3.

Таблиця 3.3

Активність кислотої фосфатази (Од/л) у ротовій рідині щурів у різні строки експерименту Me [25 %; 75 %]

Доба дослідження	Перша група (n=6)	Друга група (n=6)	Третя група (n=6)	Четверта група (n=6)
3-тя	15,35 [13,30;16,53]; p<0,005;	14,55 [13,10; 15,50]; p<0,005	14,30 [12,38; 15,25]; p<0,005	12,70 [11,48; 14,40]; p<0,005
7-ма	13,95 [12,58; 15,88]; p<0,005;	13,75 [12,18; 15, 13]; p<0,005	12,91 [12,18; 14,55]; p<0,005	11,70 [10,43; 12,63]; p<0,005; p _{1,2} <0,05;
14-та	13,55 [12,20; 15,43]; p<0,005;	13,05 [11,68;14,58] p<0,005;	12,45 [11,28; 13,15]; p<0,005;	9,45 [8,38; 10,68]; p<0,05; p _{1,2} <0,005; p ₃ <0,05;
28-ма	12,90 [11,58; 14,85]; p<0,005;	12,50 [10,68; 13,98]; p<0,005;	11,80 [10,63; 12,55]; p<0,005;	8,40 [7,15; 9,62]; p ₁ <0,005; p ₂ <0,005;p ₃ <0,05;

Примітка: p - у порівнянні з цим показником у щурів контрольної групи; p₁- у порівнянні з показником у щурів першої групи; p₂- у порівнянні з показником у щурів другої групи; p₃ - у порівнянні з показником у щурів третьої групи

При аналізі отриманих результатів на 3-тю добу дослідження спостерігали статистично значуще підвищення активності КФ у ротовій рідині щурів усіх експериментальних груп на 116,2 %, 104,9 %, 101,4 %, 101,4 %.

78,9 % відповідно показникам у I, II, III та IV груп, що свідчить про посилення процесів резорбції кісткової тканини. При порівнянні значень активності КФ у ротовій рідині щурів I і IV груп, ми бачимо різницю у 17,3%.

На 7-му добу дослідження у ротовій рідині щурів I та II груп спостерігалися практично однакові результати: залишалася підвищеною активність КФ у порівнянні з контролем на 96,5 % та 93,7 % відповідно, а в III групі – на 81,3 % на тлі незначного зниження активності цього ферменту у порівнянні з 3 добою дослідження на 9,1 %, 5,5 %, 9,72 %, 7,9 % відповідно дослідженим групам.

Більш значущі зміни активності КФ спостерігалися у ротовій рідині щурів IV групи на 14-ту добу: на 25,6 % відбувалося зниження активності ферменту у порівнянні з 3-ою добою дослідження, хоча отримані значення відрізнялись від цього показника у щурів контрольної групи (на 33,1 %). Однак, достовірно активність КФ знижувалася у щурів IV групи у порівнянні з I - III групами експериментальних тварин. У ротовій рідині щурів I-III груп активність КФ була ще на високих рівнях й статистично значуще відрізнялася від цього показника у щурів контрольної групи.

На 28-му добу у щурів, яким моделювали дірчастий дефект нижньої щелепи (I група) та щурам II групи, яким заповнювали кістковий дефект гідроксиапатитом, рівень активності КФ залишався на одному рівні, а саме на 81,7 % та на 76 % був вищим цього показника у контрольній групі (без втручань).

У щурів III групи – активність КФ залишалася на 66,2 % вище активності цього ферменту у порівнянні з контролем. Найбільш значні позитивні зниження цього індикаторного показника метаболічних процесів у кістковій тканині визначали у щурів, яким заповнювали кістковий дефект гідроксиапатитом та й проводили ін'єкції тималіну в оточуючі м'які тканини, спостерігалися практично однакові значення активності КФ у ротовій рідині

з контрольною групою (без втручань). Також цей показник в IV групі статистично значуще відрізнявся від активності КФ у слині щурів I-III експериментальних тварин, що свідчить про позитивну оцінку проведеної терапії (сполучення заміщення кісткової тканини гідроксиапатитом та ін'єкції тималіну).

Таким чином, за допомогою дослідження активності ферментів у ротовій рідині, таких як ЛФ і КФ дослідили не тільки функціональний стан слинних залоз, а також оцінити стан метаболізму в кістковій тканині, стан всього організму.

Підвищення активності КФ у ротовій рідині експериментальних тварин I-IV груп на 3-тю та 7-му добу дослідження може супроводжуватися пошкодженням пародонту ротової порожнини, м'яких тканин нижньої щелепи після проведення оперативного втручання та свідчити про порушення відновлювальних процесів. У подальшому це може призвести до дисбіотичних змін у порожнині рота, зниженні функціонування слинних залоз і захисних властивостей ротової рідини.

Висновки

Вміст біохімічних показників – маркерів у ротовій рідині, які є біологічним об'єктом для прогнозу та диференційного діагнозу багатьох захворювань, є досить простим і цінним неінвазивним методом оцінки загального та місцевого стану організму щурів. Таким чином, ротова рідина у щурів є чутливим індикатором впливу механічного пошкодження кісткової тканини нижньої щелепи (моделювання дефекту в кістковій тканині) на організм, у результаті чого змінюються основні біохімічні показники: sIgA як показник антибактеріального захисту слизових оболонок порожнини рота, ферменти: КФ та ЛФ. У експериментальних тварин за умов пошкодження цілісності кісткової тканини і м'яких тканин, які оточують нижню щелепу спостерігаються порушення захисної функції слини: місцевого імунітету слизових оболонок ротової порожнини, а саме достовірне зниження

показника гуморального імунітету - sIgA у ротовій рідині. Зниження вмісту sIgA у ротовій рідині експериментальних щурів можуть призвести до дисбалансу в місцевій імунній відповіді, активації патогенної мікробіоти, макрофагальної системи та в подальшому розвитку аутоімунних і запальних захворювань порожнини рота, а також сприяє розвитку карієсу.

Підвищення активності ЛФ та КФ в ротовій рідині особливо на 3-тю добу дослідження може свідчити про можливе руйнування тканин пародонту, м'яких тканин, вихід ферментів із клітин сполучної тканини та зниження репаративних процесів. Саме на 14-ту добу дослідження відбувається покращення активності ЛФ, а на 28-му – КФ у ротовій рідині щурів IV групи. Це свідчить про позитивний ефект проведеної терапії – сполучення таких лікарських засобів, як заповнення дефектів кісткової тканини остеогенним матеріалом та ін'єкціями тималіну в оточуючі м'які тканини.

3.2. Визначення остеокальцину в крові експериментальних тварин як основного біохімічного показника остеогенезу

У нашому дослідженні ми визначали вміст остеокальцину в сироватці крові експериментальних тварин як біохімічного маркера кісткового ремоделювання нижньої щелепи після симуляції дірчастого дефекту.

У крові щурів контрольної групи вміст остеокальцину складав 17,95 [15,80; 19,85] нг/мл. Нами встановлено, що на 3-тю добу експерименту в сироватці крові щурів усіх досліджуваних груп (I-IV) спостерігається статистично значуще зниження рівня в крові остеокальцину (рис. 3.1).

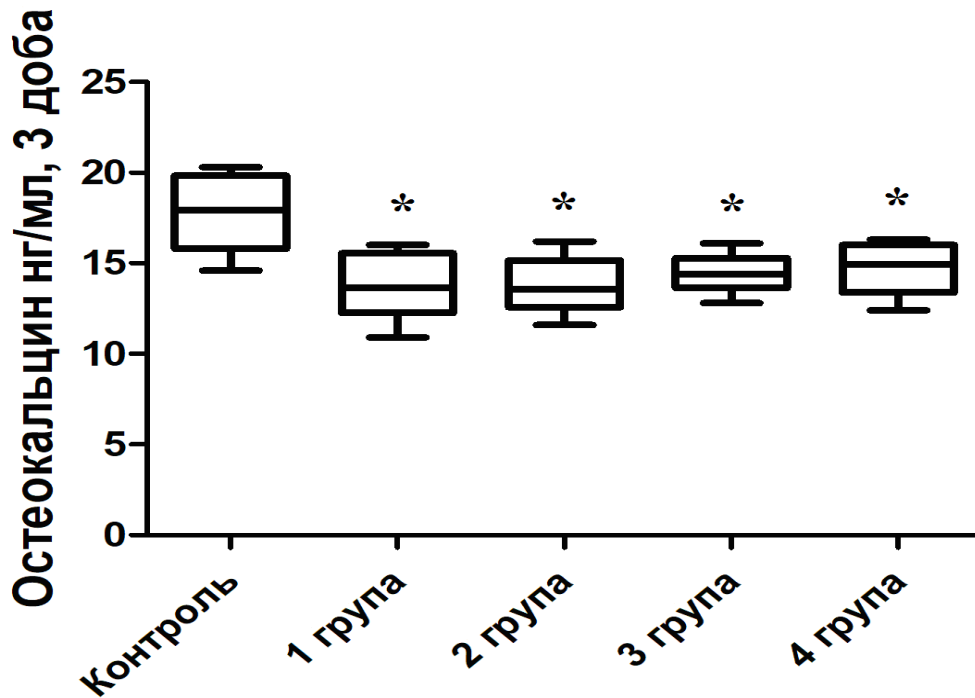


Рис. 3.1. Вміст остеокальцину (нг/мл) у крові експериментальних щурів на 3-тю добу дослідження

Примітка: * - у порівнянні з цим показником у групі контролю;

У щурів 1-ої групи, яким змодельовали дірчастий дефект, вміст остеокальцину складав 13,65 [12,25; 15,55] нг/мл, що на 23,96 % нижче цього показника у щурів групи контролю (без втрачань). У щурів зі змодельованим дірчастим дефектом з закриттям кістково замінним матеріалом «Біомін ГТ» вміст остеокальцину в крові щурів складав 13,55 [12,58; 15,15] нг/мл, що також на 24,5 % нижче цього показника у групі контролю та практично співпадає з показниками у 1-й групі. У 3-ій групі щурів, яким проводили ін'єкції тималіну в оточуючі тканини після проведеного дірчастого дефекту, рівень остеокальцину складав 14,40 [13,63; 15,28] нг/мл, що також був нижче на 19,78% ніж у щурів контрольної групи (без втручань). У крові щурів 4-ої групи, яким після змодельованого дірчастого дефекту, проводили закриття кістково замінним матеріалом та ін'єкції розчином тималіну вміст в крові остеокальцину складав 14,95 [13,38; 16,00] нг/мл, що на 16,7% нижче цього

показника у групі контролю (без втручань). Різниця вмісту остеокальцину в крові щурів IV групи тільки на 9,5% була вище у порівнянні з показником у I групі.

Результати дослідження на 7-му добу відображені на рисунку 3.2. Вміст остеокальцину в сироватці крові щурів I та II експериментальних груп мав тенденцію до підвищення у порівнянні з даними на 3-тю добу та складав 14,25 [13,33;15,88] нг/мл та 14,85 [13,40;16,33] нг/мл, що залишалося статистично значуще на 20,6 % та 17,3 % нижче цього показника відповідно у щурів групи контролю (без втрачань). Вміст остеокальцину в сироватці крові III та IV груп не відрізнялися статистично значуще від показників групи контролю (без втрачань). (рис. 3.2).

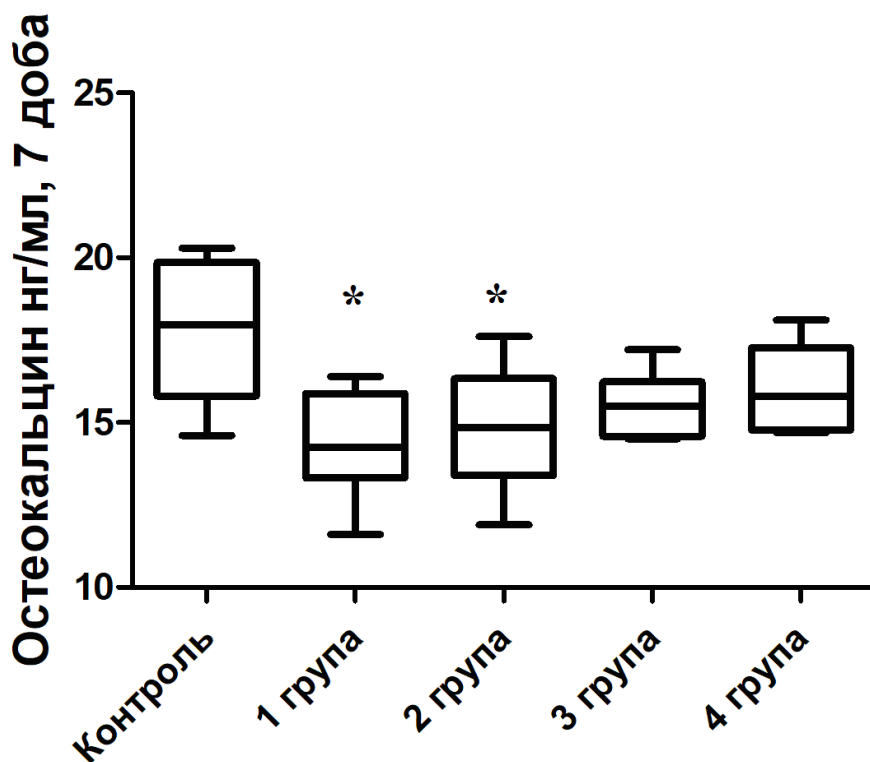


Рис. 3.2. Вміст остеокальцину (нг/мл) в крові експериментальних щурів на 7-му добу дослідження

Примітка: * - у порівнянні з цим показником у групі контролю;

На 14-ту добу спостереження вміст остеокальцину в крові щурів I, II та IV груп статистично значуще не відрізнявся від цього показника в групі контролю (рис.3.3.). У крові щурів III групи спостерігалось ще знижений рівень остеокальцину на 19,8 % у порівнянні з показником у щурів контрольної групи. Однак, на 14-ту добу спостереження ми маємо статистично значущу різницю вмісту дослідженого білка в крові експериментальних тварин IV групи у порівнянні з першою, другою та третьою, що може свідчити про активацію репаративного остеогенезу за умов лікування дірчастих дефектів кісткової тканини нижньої щелепи шляхом заповнення дефекту кістково замінним матеріалом та ін'єкцій розчином тималіну у оточуючі м'які тканини (рис. 3.3).

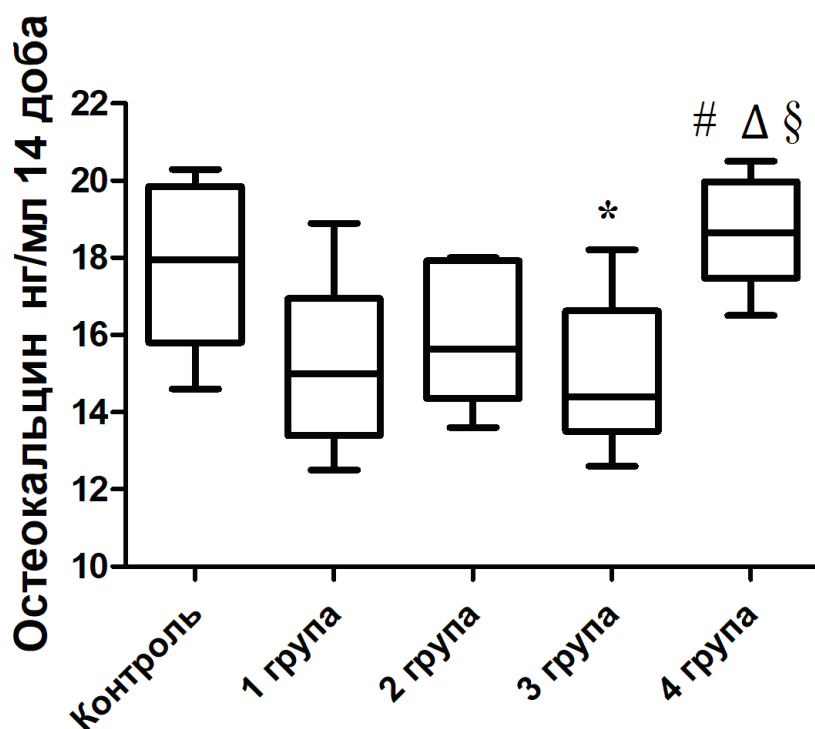


Рис. 3.3. Вміст остеокальцину (нг/мл) в крові експериментальних щурів на 14-ту добу дослідження

Примітка: * - у порівнянні з цим показником у групі контролю; # - у порівнянні з цим показником у першій групі; Δ - у порівнянні з цим показником у другій групі; § - у порівнянні з цим показником у третій групі;

Якщо на 14-ту добу порівнювати вміст остеокальцину в крові щурів IV групи (18,65 [17,48;19,98] нг/мл) з вмістом цього білка у щурів, яким було змодельовано дірчастий дефект (I група, 15,00 [13,40;16,95] нг/мл), то можна визначити значне збільшення - на 24,3 % вмісту остеокальцину. Також можна відзначити достовірне збільшення вмісту остеокальцину у щурів з проведеним комбінованим лікуванням у порівнянні з показниками цього протеїну у крові щурів II та III груп. На нашу думку, вже на 14-ту добу за умов комбінування двох видів лікування, а саме застосування заповнення дефекту кістковозамінним матеріалом та ін'єкцій тималіну, спостерігається значний репаративний остеогенез. Відомо, що цей процес відбувається за умов співвідношення процесів резорбції та реорганізації фрагментів кістки, що забезпечують остеокласти, процесів ремоделювання регенерату, та процесів утворення кісткової тканини, які забезпечують остеобласти. Про це нам свідчить достатньо високий рівень остеокальцину в крові щурів четвертої групи.

На 28-му добу дослідження вміст остеокальцину в сироватці крові щурів усіх груп не відрізнявся від рівню цього білка в контрольній групі (без втручання) (рис. 3.4).

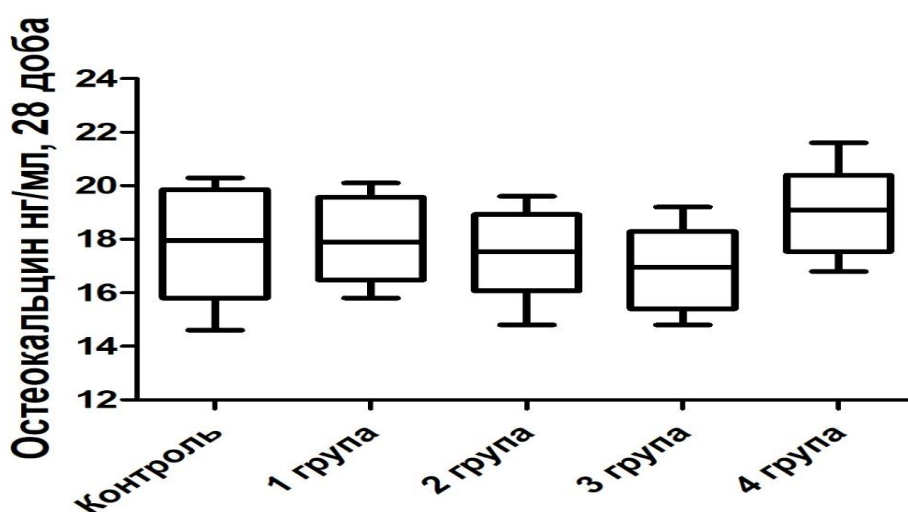


Рис. 3.4. Вміст остеокальцину (нг/мл) у крові експериментальних щурів на 28-му добу дослідження

Особливо можна відзначити підвищення вмісту остеокальцину в крові щурів IV групи у порівнянні з контролем, що свідчить про покращене забезпечення ремоделювання кісткової тканини та остеогенезу. Відомо, що саме цей білок синтезується остеобластами під час утворення остеоїду [160]. Остеокальцин, що синтезується, вбудовується у матрикс кісткової тканини, невелика кількість якого потрапляють до крові. Таким чином, вміст остеокальцину в крові щурів на 28-му добу відображають пізню стадію остеосинтезу.

Висновки

На 3-тю добу дослідження після моделювання дірчастого дефекту кісткової тканини нижньої щелепи у щурів усіх експериментальних груп та на 7-му добу у щурів I та II груп визначено дисбаланс процесів, що забезпечують ремоделювання кісткової тканини, а саме превалювання процесів остеорезорбції над процесами остеосинтезу, про що свідчить знижений вміст у крові остеокальцину. Це також може свідчити про зниження органічної складової кісткової тканини, що знайшло підтвердження у зниженому вмісті в крові остеокальцину – біохімічного маркеру остеогенезу.

Тільки на 14-ту та 28-му добу ми спостерігаємо у крові щурів IV експериментальної групи значне зростання процесів репаративного остеогенезу, про що свідчить значне підвищення вмісту у сироватці крові остеокальцину.

3.3. Визначення основних біохімічних показників метаболізму кісткової тканини нижньої щелепи експериментальних тварин

У кісткових біоптатах нижньої щелепи визначали основні біохімічні показники метаболізму кісткової тканини, а саме активність ЛФ та КФ, після

чого розраховували індекс мінералізації шляхом розрахунку співвідношення активності ЛФ до КФ в умовних одиницях (у.о.).

У щурів контрольної групи (без втручань) активність ЛФ у біоптатах кісткової тканини нижньої щелепи склала 12,95 [11,50; 14,73] МО/г; Визначення активності ЛФ в біоптатах кісткової тканини представлена в табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Активність ЛФ (МО/г) у біоптатах кісткової тканини експериментальних тварин в різні строки експерименту Me [25 %; 75 %]

Доба	Перша група (n=6)	Друга група (n=6)	Третя група (n=6)	Четверта група (n=6)
3-тя	7,35 [6,55; 8,52]; p<0,005;	9,65 [8,47; 10,68]; p<0,005,p ₁ <0,005	9,55 [7,92; 11,03]; p<0,05	10,85 [9,57; 11,88]; p<0,05, p ₁ <0,05
7-ма	7,33 [6,32; 8,37]; p<0,005;	9,80 [8,25; 10,35] p<0,005,p ₁ <0,05	9,45 [8,42; 10,68]; p<0,05, p ₁ <0,05	10,25 [9,57; 11,80]; p<0,05,p ₁ <0,05
14-та	8,05 [7,52;9,22]; p<0,005;	9,60 [8,17;10,50] p<0,005;p ₁ <0,005	9,50 [8,70; 10,78]; p<0,05, p ₁ <0,005	10,50 [9,65; 12,13]; p ₁ <0,05
28-ма	8,85 [8,20; 9,92]; p<0,005;	10,00 [9,20; 11,43] p<0,05	10,55 [9,85; 11,58] p, p ₁ <0,05	12,85 [11,58; 14,13]; p _{1,2,3} <0,005

Примітка: p- у порівнянні з показником у щурів контрольної групи; p₁- у порівнянні з показником у щурів першої групи; p₂ - у порівнянні з показником у щурів другої групи; p₃ - у порівнянні з показником у щурів третьої групи;

На 3-тю добу спостереження у біоптатах кісткової тканини щурів, що нами проаналізовано, було визначено, що в усіх зразках спостерігалось статистичне значуще зниження активності досліджуваного ферменту в кістковій тканині щурів 1-ої групи – на 43,2 %, у 2-гій та 3-тій – на 25,48 %, 26,25 %, відповідно, та 4-тій – на 16,22 % у порівнянні з активністю ЛФ у щурів контрольної групи (без втручань).

Також необхідно зазначити, що активність ЛФ у зразках біоптатів кісткової тканини нижньої щелепи щурів групи II та IV статистично значуще відрізнялася від цього показника у експериментальній групі I, а саме була вище на 31,3 % та 47,61 % відповідно.

На 7-му добу дослідження ми не спостерігали змін активності ЛФ, у порівнянні з третьою добою дослідження, у порівнянні з цим показником у контрольній групі. Хоча найбільше зниження активності ЛФ спостерігалось в I групі - на 43,2 % та залишалася практично на тому ж рівні як й на 3-тю добу. У щурів II-IV експериментальних груп спостерігалось практично незмінні результати у порівнянні з цими показниками на 3-тю добу.

На 14-ту добу наших спостережень активність ЛФ у біоптатах кісткової тканини нижньої щелепи в усіх зразках щурів I-IV груп, практично не відрізнялася від активності ЛФ у порівнянні з показником у щурів на 3-тю та 7-му добу.

На 28-му добу експерименту спостерігається збільшення активності ЛФ у біоптатах кісткової тканини відповідно отриманих результатів у щурів контрольної групи на 31,66 % (I група), на 22,78 % (II група), на 18,53 % (III група). У тварин, що склали IV групу, активність ЛФ у біоптатах практично дорівнювали цьому показнику у групі контролю та статистично значуще відрізнявся від показника у щурів I-ої групи на 45,2 %, що також свідчить про позитивний ефект проведеної терапії дефекту нижньої щелепи на процес репаративного остеогенезу. Підвищення активності ЛФ відображує активний перебіг репаративного остеогенезу, що знайшло підтвердження в результатах морфологічного дослідження.

Дуже важливо було визначити активність КФ у біоптатах кісткової тканини та визначити індекс мінералізації (табл. 5). У крові щурів контрольної групи активність КФ у біоптатах кісткової тканини нижньої

щелепи склали 0,71 [0,48; 0,84] МО/г; Визначення активності КФ у біоптатах кісткової тканини представлена в табл. 3.5.

Таблиця 3.5

Активність КФ (МО/г) у біоптатах кісткової тканини експериментальних тварин у різні строки експерименту Me [25 %; 75 %]

Доба	Перша група (n=6)	Друга група (n=6)	Третя група (n=6)	Четверта група (n=6)
3-тя	3,45 [2,37; 4,27]; p<0,005;	3,05 [2,27; 4,0]; p<0,005	3,35 [1,97; 3,73]; p<0,005	3,0 [2,02; 3,77]; p<0,005
7-ма	3,10 [2,47; 4,12]; p<0,005;	2,75 [2,07; 3,75] p<0,005	3,00 [1,67; 3,40]; p<0,005	2,05 [1,50; 2,52]; p<0,05
14-та	2,60 [2,10;3,50]; p<0,005;	2,10 [1,65;3,32] p<0,005;	2,45 [1,40; 2,62]; p<0,05	1,40 [0,85; 2,0]; p ₁ <0,05
28-ма	2,30 [1,82; 2,92]; p<0,005;	1,90 [1,32; 2,87] p<0,05	2,02 [1,15; 2,30] p<0,05;p ₂ <0,005	0,95[0,52; 0,35]; p ₁ <0,005

Примітка: p - у порівнянні з показником у щурів контрольної групи; p₁ - у порівнянні з показником у щурів першої групи; p₂ - у порівнянні з показником у щурів третьої групи

На 3-тю добу експериментального дослідження активність КФ у біоптатах кісткової тканини щурів, які нами були проаналізовані, було визначено, що в усіх зразках спостерігалось статистичне значуще підвищення активності досліджуваного ферменту в кістковій тканині нижньої щелепи щурів 1-ої групи - в 4,86, у другій – в 4,3, в 4,71 - в третій та четвертій – в 4,22 рази у порівнянні з активністю цього показника у щурів контрольної групи (без втручань), що свідчить про активацію процесів резорбції кісткової тканини у зразках біоптату кісткової тканини всіх експериментальних тварин.

На 7-му добу дослідження ще спостерігалось практично незмінне, у порівнянні з 3-ою добою дослідження, підвищення активності КФ у біоптатах кісткової тканині, у порівнянні з цим показником у групі

контролю. Хоча найбільше зниження активності КФ (на 31,7 %) спостерігалось у тварин IV групи у порівнянні з цим показником на 3-тю добу та на 33,8 % у порівнянні з цим показником у щурів I групи на той же день спостереження.

На 14-му добу наших спостережень активність КФ у біоптатах кісткової тканини нижньої щелепи була ще високою в усіх зразках кісткової тканини щурів I-III груп, мінімальні значення відзначалися у зразках IV групи у порівнянні з контролем, та статистично значуще відрізнявся цей показник від активності КФ у порівнянні з показником у щурів I-ої групи на 46,15 %.

На 28-му добу спостереження спостерігається ще підвищена активність КФ у біоптатах кісткової тканини відповідно даних у щурів контрольної групи: в 3,24 рази (I група), 2,67 рази (II група), 2,84 рази (III група). У тварин, що складали IV групу, активність КФ у біоптатах кісткової тканини практично дорівнювали показнику у групі контролю та статистично значуще відрізнялася від показника у щурів першої групи – на 58,7 %.

Одним з показників, що характеризує метаболізм кісткової тканини, є індекс мінералізації, який розраховується шляхом визначення співвідношення активностей ЛФ до КФ [174].

Аналізуючи значення співвідношення індексу ЛФ/КФ на 3-тю та 7-му добу, було визначено, що найбільш активні процеси остеосинтезу відбувалися, за даними індексу мінералізації, у нижній щелепі щурів IV експериментальної групи при значеннях ЛФ/КФ - $5,0 \pm 0,36$. Значно нижчими були дані індексу мінералізації у тварин I-ої групи як на 3-тю, так й на 7-му добу – $2,13 \pm 0,16$, ($p < 0,05$), та $2,37 \pm 0,21$, відповідно (рис. 3.5).

На рис. 3.5 розраховано індекс мінералізації в біоптатах кісткової тканини нижньої щелепи щурів на 3-тю та 7-му добу дослідження.

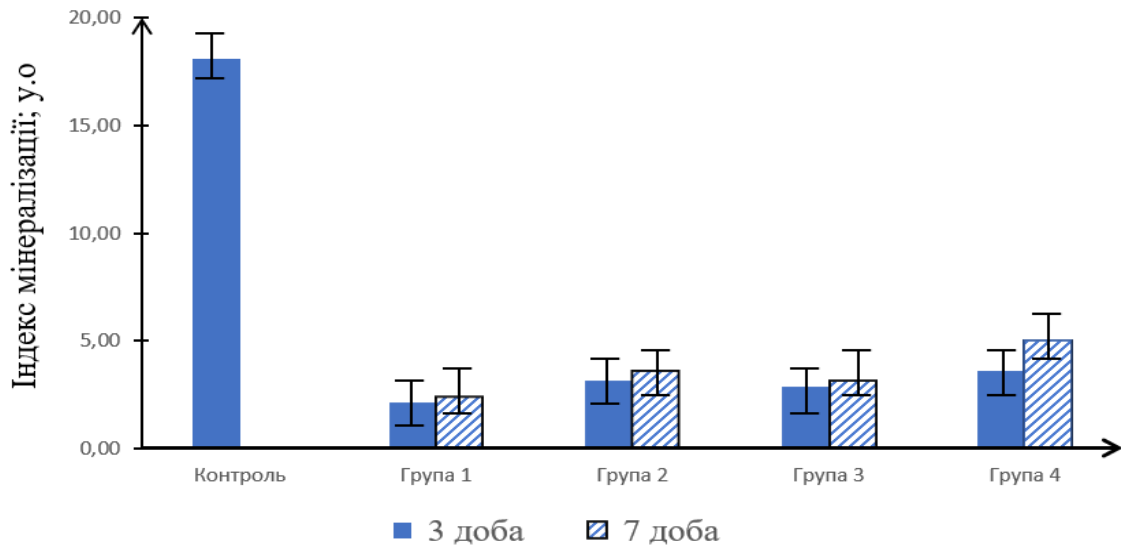
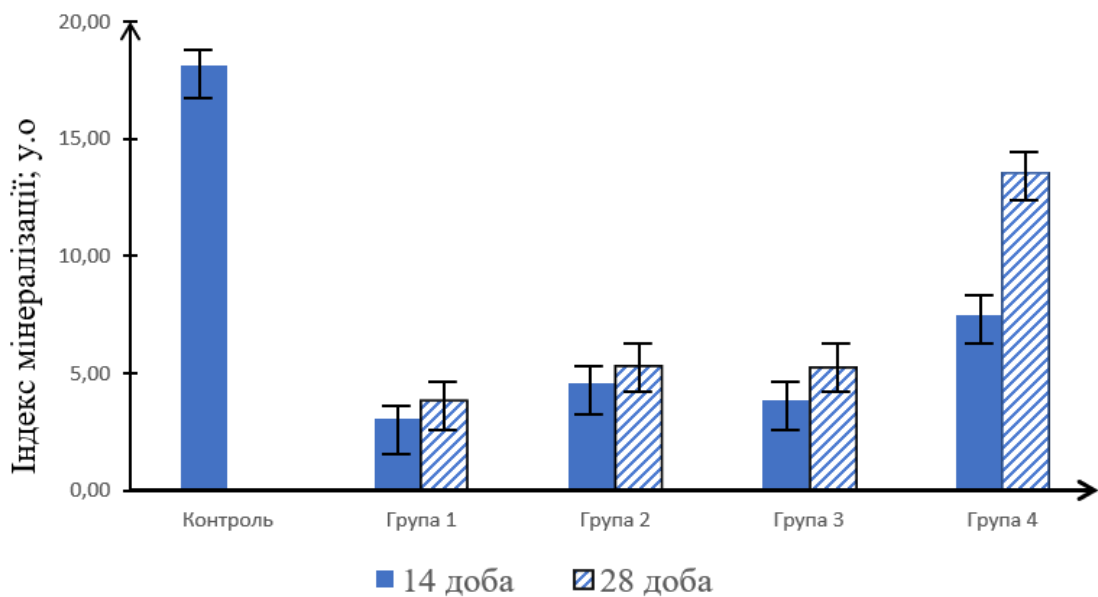


Рис. 3.5. Індекс мінералізації (у.о.) у кістковій тканині нижньої щелепи у експериментальних тварин на 3-тю та 7-му добу дослідження

Показники індексу мінералізації в кістковій тканині на 14-ту та 28-му добу представлено на рис. 3.6.



Аналіз значень індексу співвідношення ЛФ/КФ показав зростання цього параметра у щурів в усіх експериментальних групах дослідження з 3

добу до 28-мої, однак отримані дані були нижче індексу мінералізації у інтактних тварин. Максимальне зростання значень індексу ЛФ/КФ визначали у щурів IV експериментальної групи.

Таким чином, індекс мінералізації кісткової тканини нижньої щелепи найбільш зростав на 14 та більш значуще на 28 добу у щурів IV групи, яким заповнювали дірчастий дефект кістково заміним матеріалом та проводили ін'єкції тималіну в оточуючі м'які тканини. Можна зазначити, що у цієї групи тварин на 14-ту та 28-му добу спостерігається активація процесів репаративного остеогенезу (це підтверджувало також активністю досліджених ферментів) за умов комбінованого застосування гідроксиапатитвмісного остеотропного матеріалу «Біомін ГТ» та ін'єкції тималіну в оточуючі м'які тканини.

Висновок

Отже, на підставі проведеної нами експериментальної роботи з використанням морфологічного дослідження, спрямованого на вивчення активності репаративного остеогенезу на нижній щелепі та біохімічного аналізу основних маркерів метаболізму, маркерів ремоделювання кісткової тканини (ЛФ та КФ, остеокальцину, визначення індексу мінералізації) встановлено, що у тварини IV експериментальної групи за умов комбінованого застосування гідроксиапатитвмісного остеотропного матеріалу «Біомін ГТ» та ін'єкцій тималіну в оточуючі м'які тканини відбувається значна активація репаративного остеогенезу у порівнянні з іншими групами, що брали участь в дослідженні.

РОЗДІЛ 4

МОРФОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПІ ЩУРІВ

4.1. Морфологічні особливості репаративного остеогенезу в нижній щелепі щурів групи 1

На 3-тю добу в кістковій тканині нижньої щелепи щурів було виявлено великий дефект. У порожнині дефекту відмічалися елементи крові, альтеративно-змінені фрагменти багат шарового плоского епітелію, м'язової, сполучної та кісткової тканин. Останні були дифузно інфільтровані нейтрофільними лейкоцитами, моноцитами, лімфоцитами, опасистими клітинами, макрофагами, клітинами фібробластичного диферону, серед яких превалюючими були нейтрофільні лейкоцити (рис. 4.1).

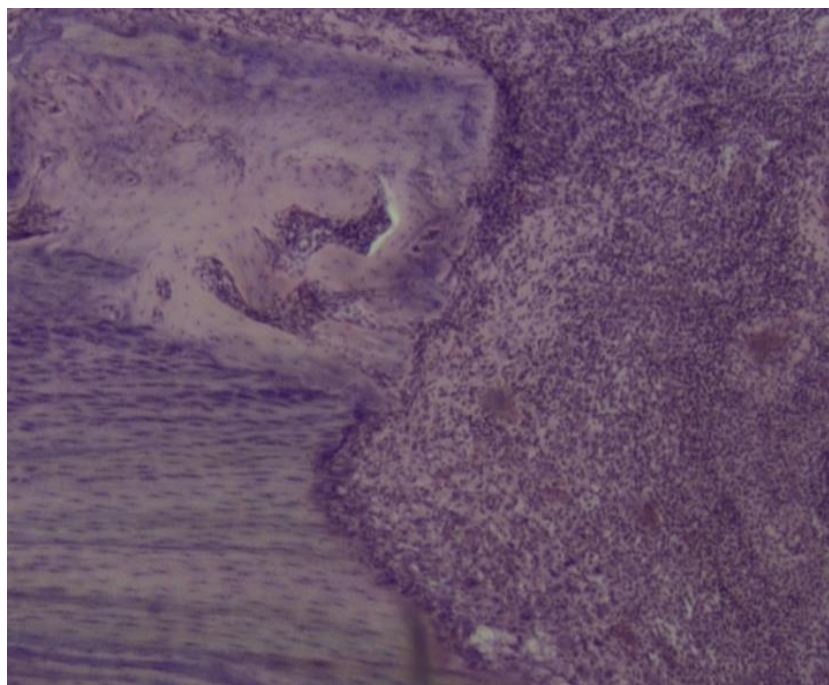


Рис. 4.1. Вогнища незрілої грануляційної тканини, поліморфна клітинна інфільтрація в порожнині кісткового дефекту. Дистрофічно-некротичні зміни в кістковій тканині, що оточує кістковий дефект. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 400$

В порожнині дефекту у більш глибоких відділах також були виявлені локуси незрілої грануляційної тканини з вираженими гемодинамічними порушеннями, яка характеризувалася вираженим превалюванням клітинного та судинного компонентів над волокнистим компонентом. Судинний компонент був представлений численними повнокровними капілярами; клітинний компонент – нейтрофільними лейкоцитами, моноцитами, лімфоцитами, опасистими клітинами, макрофагами, клітинами фібробластичного диферону; волокнистий компонент – хаотично розташованими тонкими волокнами сполучної тканини, які при забарвленні пікрофуксином за ван Гізоном мали світло червоний колір.

При імуногістохімічному дослідженні в порожнині кісткового дефекту були виявлені CD20⁺-, CD3⁺-, CD68⁺-, CD86⁺-, CD163⁺-клітини, середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺-клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин зазначено у табл. 4.1. При аналізі середнього значення відносної кількості фенотипів макрофагів, тобто M1-макрофагів (CD86⁺-клітин) та M2-макрофагів (CD163⁺-клітин), реєструвалося превалювання (p<0,05) відносної кількості CD86⁺-клітин над відотною кількістю CD163⁺-клітин.

Таблиця 4.1

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺- клітин і відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
185,7±12,7	77,3±2,38	190,7±4,42	82,8±9,02	17,2±9,02

У кістковій тканині, що оточувала змодельований дефект, краї мали нечіткі обриси з ознаками резорбції, що було обумовлено активізацією

морфо-функціонального стану остеокластів. У цій тканині реєструвалися виражені альтеративні зміни, про що свідчило нерівномірне забарвлення структурних елементів гематоксиліном та еозином (рис. 4.1). Середнє значення коефіцієнту яскравості в кісткових трабекулах становило $0,66 \pm 0,009$. В окісті були виявлені виражені дистрофічно-некротичні зміни, гемодинамічні порушення, представлені набряком, повнокрів'ям судин і формуванням крововиливів. У кістковій тканині з окістям також була виявлена поліморфна клітинна інфільтрація, що була представлена нейтрофільними лейкоцитами, моноцитами, лімфоцитами, опасистими клітинами, макрофагами та клітинами фібробластичного диферона, серед яких превалювали нейтрофільні лейкоцити. Зазначена інфільтрація була менш вираженою порівняно з тією, що була описана в просвіті кісткового дефекту.

На 7-му добу порівняно з 3-ою добою в порожнині кісткового дефекту зменшувалася кількість фрагментів кров'яного згустку та альтеративнозмінених тканин. Останні, як і на попередньому терміні експерименту, були дифузно інфільтровані нейтрофільними лейкоцитами, моноцитами, лімфоцитами, опасистими клітинами, макрофагами, клітинами фібробластичного диферону, серед яких переважали нейтрофільні лейкоцити. Порівняно з 3-ою добою у даних тварин збільшувалася кількість моноцитів, лімфоцитів, макрофагів і клітин фібробластичного ряду.

В порожнині кісткового дефекту також були виявлені вогнища зрілої грануляційної, сполучної та остеогенної фіброретикулярної тканин з помірними гемодинамічними порушеннями (рис. 4.2). Серед зазначених тканин превалювала грануляційна тканина. Остеогенна фіброретикулярна тканина візуалізувалася у вогнищах скупчення остеобластів у сполучній тканині.

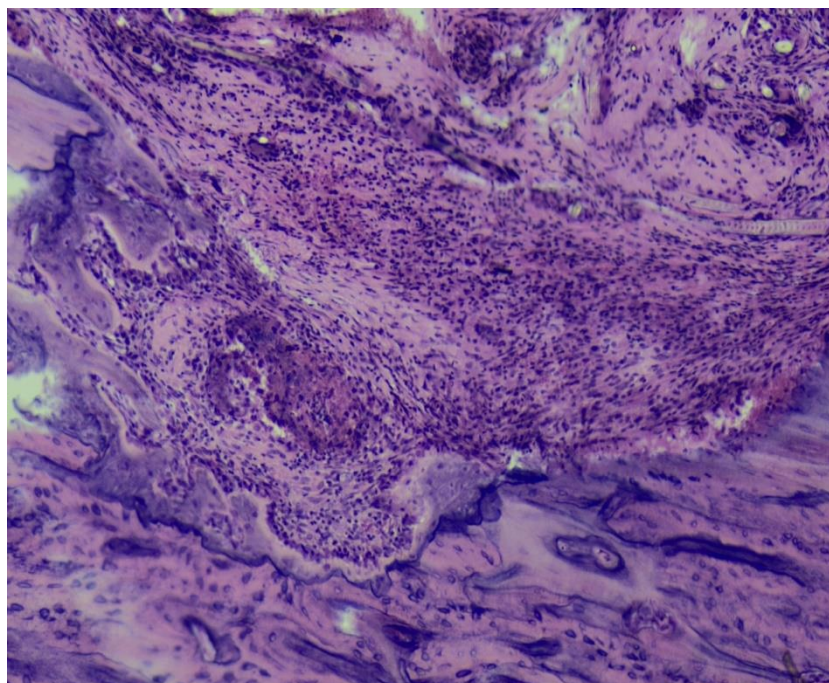


Рис. 4.2. Регенерат, що заповнює кісткову порожнину, представлений грануляційною та сполучною тканинами з помірними гемодинамічними порушеннями та дифузною поліморфною клітинною інфільтрацією. Забарвлення гематоксилином та еозином, $\times 100$

При імуногістохімічному дослідженні в порожнині кісткового дефекту також, як і на 3-тю добу, були виявлені CD20⁺-, CD3⁺-, CD68⁺-, CD86⁺-, CD163⁺-клітини (рис. 4.3). Результати підрахунку кількості клітин зазначені в табл. 4. 2.

Таблиця 4.2

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺- клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
200,7 \pm 4,97	81,2 \pm 1,96	241,2 \pm 4,48	83,0 \pm 9,90	17,0 \pm 9,90

Порівняно з 3-ою добою на 7-му добу абсолютна кількість CD20⁺- та CD68⁺-клітин не змінювалася ($p>0,05$), проте абсолютна кількість CD3⁺-клітин збільшувалася ($p<0,05$); відносна кількість CD86⁺- та CD163⁺-клітин не змінювалася ($p>0,05$). Серед останніх реєструвалося превалювання ($p<0,05$) відносної кількості CD86⁺- клітин над відносною кількістю CD163⁺-клітин.

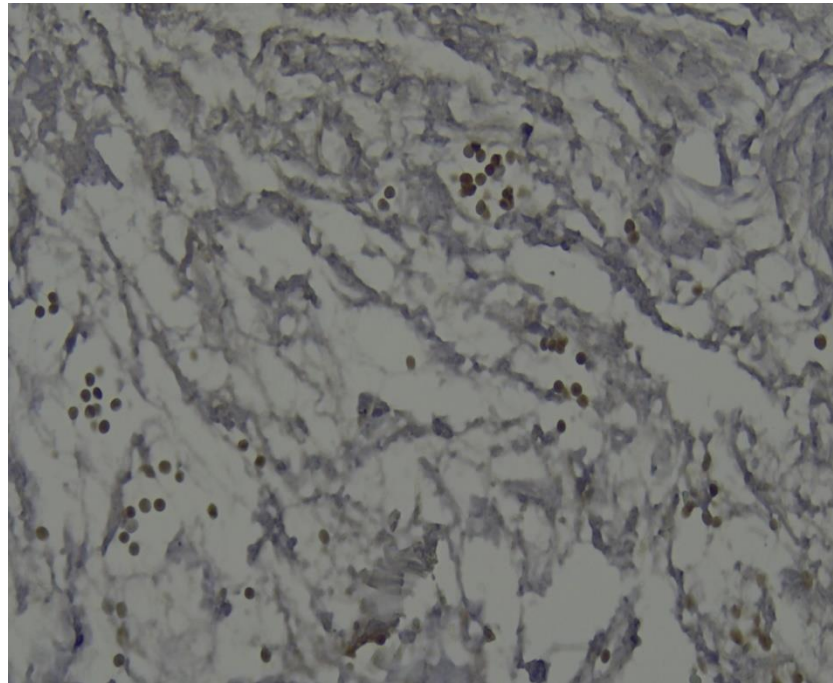


Рис. 4.3. CD86⁺-клітини у набряклій сполучній тканині, що розташована в порожнині кісткового дефекту. Імуногістохімічне дослідження з моноклональним антитілом до CD86, $\times 400$

У кістковій тканині, що межувала з порожниною, визначалися виражені дистрофічно-некротичні зміни, ступінь вираженості яких не змінювався порівняно з 3-ою добою. Середнє значення коефіцієнту яскравості не мало значимих ($p>0,05$) відмінностей порівняно з 3-ою добою та становило $0,66\pm 0,013$, що свідчило про однаковий ступінь мінералізації кісткової тканини на 3-тю та 7-му добу. Де-не-де на періостальній та ендостальній поверхнях кісткової тканини відмічалось збільшення щільності

остеогенних клітин та підвищення їх проліферативної активності з формування остеогенної фіброретикулярної тканини. Остання росла у напрямку до кісткової порожнини.

На 14-ту добу в кістковій порожнині не відмічалися альтеративнозмінені тканини та фрагменти кров'яного згустку. Регенерат, що заповнював кісткову порожнину, був представлений грануляційною, сполучною, остеогенною фіброретикулярною та пластинчатою кістковою тканинами. Серед зазначених тканин превалюючими були сполучна та грануляційна тканини. Остання в частині полів зору була незрілою, а інших полях зору – зрілою. Фрагменти пластинчатої кісткової тканини нерівномірно забарвлювалися гематоксиліном та еозином, що свідчило про різний ступінь їх мінералізації. Порівняно з кістковою тканиною, що межувала з порожниною, кісткові трабекули регенерату забарвлювалися гематоксиліном та еозином менш інтенсивно. При морфометричному дослідженні в пластинчатій кістковій тканині регенерату превалював ($p < 0,05$) питомий об'єм кісткових трабекул ($(54,2 \pm 2,05)\%$) над питомим об'ємом міжтрабекулярного простору ($(45,8 \pm 2,05)\%$).

При оглядовій мікроскопії в міжтрабекулярному просторі визначалися в частині полів зору сполучна тканина з повнокровними судинами, а частині полів зору – осередки кровотворення. Питомий об'єм міжтрабекулярного простору, заповненого сполучною тканиною ($(87,1 \pm 2,98)\%$), превалював ($p < 0,05$) над питомим об'ємом міжтрабекулярного простору з осередками кровотворення ($(12,9 \pm 2,98)\%$).

В регенераті також була виявлена дифузна клітинна інфільтрація, представлена нейтрофільними лейкоцитами, моноцитами, лімфоцитами, опасистими клітинами, макрофагами та клітинами фібробластичного диферону. Порівняно з 7-ою добою на 14-ту добу було відмічено збільшення кількості моноцитів, лімфоцитів, макрофагів, клітин фібробластичного ряду та зменшення кількості нейтрофільних лейкоцитів.

При імуногістохімічному дослідженні в порожнині дефекту були виявлені CD20⁺-, CD3⁺-, CD68⁺-, CD86⁺-, CD163⁺-клітини, середні значення кількості яких представлені в табл. 4.3.

Таблиця 4.3

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺- клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
240,5±14,43	83,2±1,87	300,5±4,04	67,5±12,14	32,5±12,14

Аналізуючи одержані показники, було відмічено, що на 14-ту добу порівняно з 7-ою добою середнє значення абсолютної кількості CD20⁺-клітин не змінювалося ($p > 0,05$), середнє значення абсолютної кількості CD3⁺- та CD86⁺-клітин збільшувалося ($p < 0,05$) ($p < 0,05$); середнє значення відносної кількості CD86⁺-клітин зменшувалося ($p < 0,05$), а середнє значення відносної кількості CD163⁺-клітин збільшувалося ($p < 0,05$). На 14-ту добу, так само як і на 7-му добу, серед фенотипів макрофагів було виявлено превалювання ($p < 0,05$) відносної кількості M1-макрофагів (CD86⁺-клітини) над відносною кількістю M2-макрофагів (CD163⁺-клітини).

У кістковій тканині, що межувала з порожниною, відмічалися помірно виражені, а де-не-де не виражені процеси кісткоутворення, про що свідчило посилення проліферативного потенціалу остеогенних клітин, розташованих на періостальній та ендостальній поверхнях. Середнє значення коефіцієнту яскравості зменшувалося ($p < 0,05$) порівняно з 7-ою добою та становило $0,63 \pm 0,010$, що свідчило про наростання процесів мінералізації в кісткових трабекулах.

На 28-му добу експерименту в кістковій порожнині визначався регенерат, що був представлений сполучною, остеогенною фіброретикулярною та пластинчатою кістковою тканинам. Порівняно з 14-ою добою у цих тварин у регенераті зменшувалася питома вага сполучної тканини та збільшувалася питома вага остеогенної фіброретикулярної та пластинчастої кісткової тканин. У останній кісткові балки не мали впорядкованого просторового розташування та нерівномірно забарвлювалися гематоксиліном та еозином. Пластинчата кісткова тканина регенерату при морфометричному дослідженні характеризувалася превалювання питомого об'єму кісткових трабекул ((64,8±2,16)%) над питомим об'ємом міжтрабекулярного простору ((35,2±2,16)%). Порівняно з 14-ою добою на 28-му добу питомий об'єм кісткових трабекул та питомий об'єм міжтрабекулярного простору, відповідно, збільшувався ($p < 0,05$) та зменшувався ($p < 0,05$).

При оглядовій мікроскопії в міжтрабекулярному просторі визначалися поля сполучної тканини з поодинокими повнокровними судинами та вогнища кровотворення. При морфометрії було визначено превалювання ($p < 0,05$) питомого об'єму міжтрабекулярного простору, заповненого сполучною тканиною ((75,8±3,41)%), над питомим об'ємом міжтрабекулярного простору, заповненого вогнищами кровотворення ((24,2±3,41)%). Питомий об'єм міжтрабекулярного простору, заповненого сполучною тканиною, та питомий об'єм міжтрабекулярного простору, заповненого вогнищами кровотворення, у даних тварин порівняно з 14-ою добою, відповідно, зменшувався ($p < 0,05$) та збільшувався ($p < 0,05$).

При оглядовій мікроскопії препаратів, забарвлених гематоксиліном та еозином, у регенераті визначалася помірно виражена дифузна поліморфна клітинна інфільтрація, представлена моноцитами, лімфоцитами, макрофагами та клітинами фібробластичного ряду. Порівняно з 14-ою добою у даних тварин кількість зазначених клітинних елементів наростала.

При імуногістохімічному дослідженні в регенераті, що заповнював порожнину кісткового дефекту, були виявлені CD20⁺-, CD3⁺-, CD68⁺-, CD86⁺-, CD163⁺-клітини. Результати підрахунку кількості імунопозитивних клітин представлені в таблиці 4. Порівняно з 14-ою добою на 28-му добу абсолютна кількість CD20⁺-клітин не змінювалася ($p > 0,05$), проте збільшувалася ($p < 0,05$) абсолютна кількість CD3⁺- та CD68⁺-клітин; зменшувалося ($p < 0,05$) середнє значення відносної кількості CD86⁺-клітин та збільшувалося ($p < 0,05$) середнє значення відносної кількості CD163⁺-клітин. У даних тварин, як і на 14-ту добу, превалювала відносна кількість CD86⁺-клітин порівняно з відносною кількістю CD163⁺-клітин (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺-клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
268,3±26,44	82,2±1,35	334,8±3,23	56,0±8,60	44,0±8,60

У кістковій тканині, що оточувала порожнину, заповнену регенератом, середнє значення коефіцієнту яскравості зменшувалося ($p < 0,05$) порівняно з відповідним показником на 14-ту добу та становило $0,59 \pm 0,007$. Також порівняно з 14-ою добою зменшувалися дистрофічні зміни, наростала проліферативна активність остеогенних клітин, розташованих на періостальній та ендостальній поверхнях.

Висновки

Проведене дослідження дозволило виявити особливості репаративного остеогенезу в нижній щелепі щурів зі змодельованим дірчастим дефектом, без заповнення. Одержані морфологічні особливості в подальшому можуть

бути використані як контрольні дані з метою визначення впливу на репаративний остеогенез у нижній щелепі щурів деяких лікувальних заходів (заповнення кісткового дефекту синтетичним кістковим трансплантатом «Біомін ГТ» та проведення ін'єкцій в оточуючі м'які тканини тималіном).

4.2 Морфологічні особливості репаративного остеогенезу в нижній щелепі щурів групи 2

На 3-тю добу в нижній щелепі щурів було виявлено кістковий дефект. У порожнині останнього візуалізувалися елементи крові, альтеративнозмінені епітеліальні пласти, фрагменти м'язової, сполучної та кісткової тканин, що були дифузно інфільтровані нейтрофільними лейкоцитами, лімфоцитами, моноцитами, макрофагами, опасистими клітинами, клітинами фібробластичного ряду, гігантськими багатоядерними клітинами за типом сторонніх тіл, серед яких превалювали нейтрофільні лейкоцити (рис. 4.4).

Серед альтеративнозмінених тканин розташовувалися гранули кісткового трансплантату.

В кістковій порожнині також були відмічені вогнища незрілої грануляційної тканини, що локалізувалися в глибоких відділах, навкруги кісткового трансплантату, з помірними ознаками порушенням кровообігу. Грануляційна тканина характеризувалася вираженим превалюванням клітинного та судинного компонентів над волокнистим компонентом.

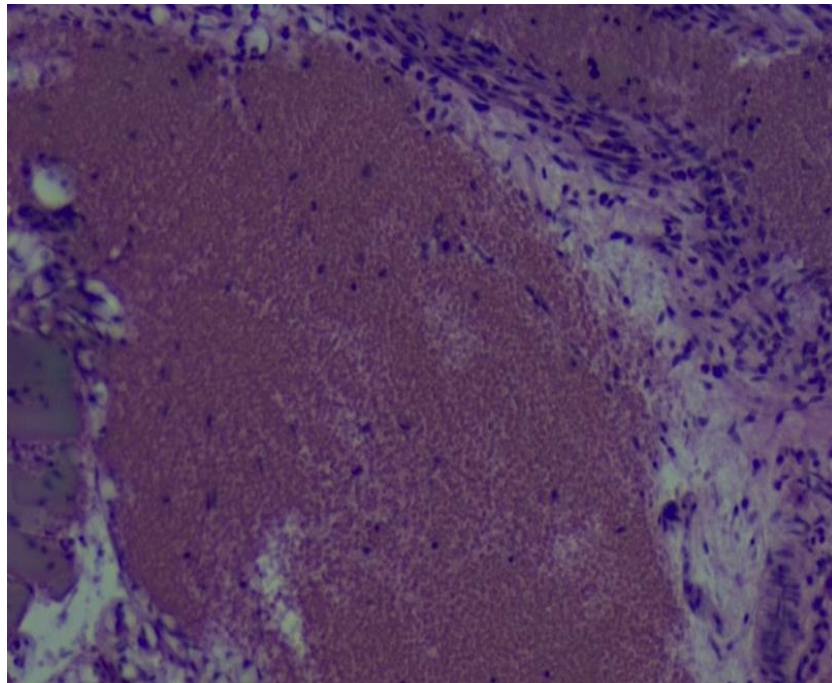


Рис. 4.4. Елементи крові, альтеративнозмінені тканині з дифузною поліморфною клітинною інфільтрацією в порожнині кісткового дефекту. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 100$

При імуногістохімічному дослідженні в порожнині кісткового дефекту були відмічені CD20⁺-, CD3⁺-, CD68⁺-, CD86⁺-, CD163⁺-клітини (рис. 4.5). Результати підрахунку кількості зазначених клітин представлені в таблиці 5. Серед фенотипів макрофагів було визначено значиме ($p < 0,05$) превалювання кількості M1-макрофагів над кількістю M2-макрофагів (табл. 4.5).

Таблиця 4.5

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺-клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
201,7 \pm 39,37	80,2 \pm 1,92	239,3 \pm 3,07	81,5 \pm 8,46	18,5 \pm 8,46

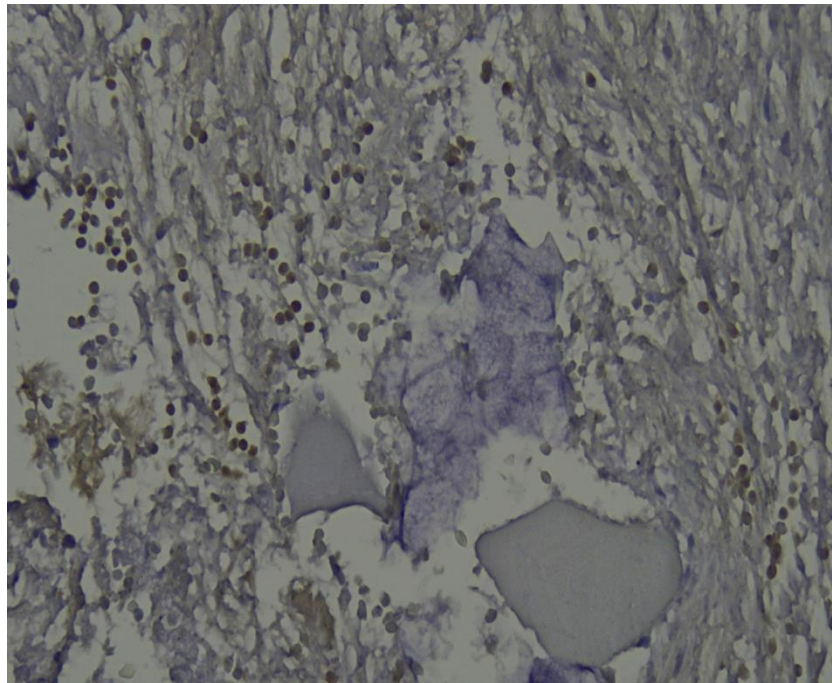


Рис. 4.5. CD20⁺-клітини у посттравматичному регенераті нижньої щелепи щура. Імуногістохімічне дослідження з моноклональним антитілом до CD20, $\times 400$.

У грануляційній тканині, що прилягали до кісткової тканини, яка межувала з кістковою порожниною, реєструвалася активізація морфофункціонального стану остеобластів (рис. 4.6).

Останні спричиняли резорбцію країв кісткової тканини, в результаті чого краї мали нечіткі обриси. Кісткова тканина характеризувалася вираженими дистрофічними та некротичними змінами. Середнє значення коефіцієнту яскравості в кісткових трабекулах останньої становило $0,67 \pm 0,009$. В окісті були виявлені помірно виражені/виражені альтеративні та гемодинамічні порушення. У кістковій тканині з оточуючим окістям також була виявлена дифузна поліморфна клітинна інфільтрація, представлена нейтрофільними лейкоцитами, моноцитами, лімфоцитами, опасистими клітинами, макрофагами та клітинами фібробластичного диферона, серед яких превалювали нейтрофільні лейкоцити. Серед зазначених клітин превалювали нейтрофільні лейкоцити. Поліморфна клітинна інфільтрація

даної локалізація була менш вираженою порівняно з вище описаною інфільтрацією в сформованій порожнині.

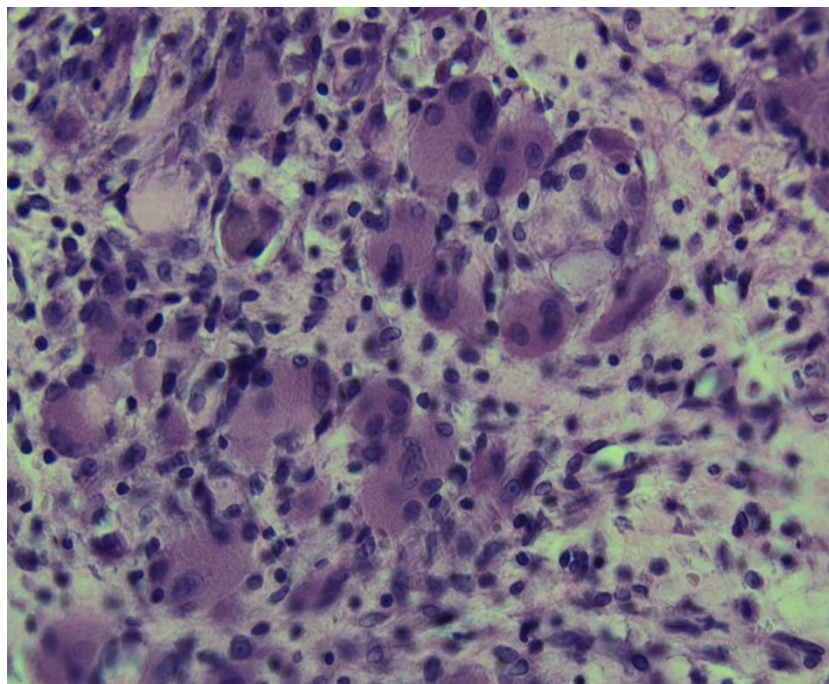


Рис. 4.6. Активізація морфофункціонального стану остеокластів у незрілій грануляційній тканині, що прилягає до кісткової тканини, яка межує з порожниною. Зabarвлення гематоксиліном та еозином, $\times 400$

Кісткова порожнина нижньої щелепи щурів на 7-му добу порівняно з 3 добою характеризувалася зменшення вмісту фрагментів крові та альтеративнозмінених тканин з дифузною поліморфною клітинною інфільтрацією, в якій, по-перше, превалювали нейтрофільні лейкоцити, по-друге, збільшувалася кількість моноцитів, лімфоцитів, макрофагів, клітин фібробластичного диферону, гігантських багатоядерних клітин за типом сторонніх тіл; збільшенням вмісту грануляційної тканини, появою сполучної та остеогенної фіброретикулярної тканин, серед яких превалюючими були грануляційна та сполучна тканини (рис. 4.7). Зазначені тканини часто локалізувалися навкруги гранул кісткового трансплантату.

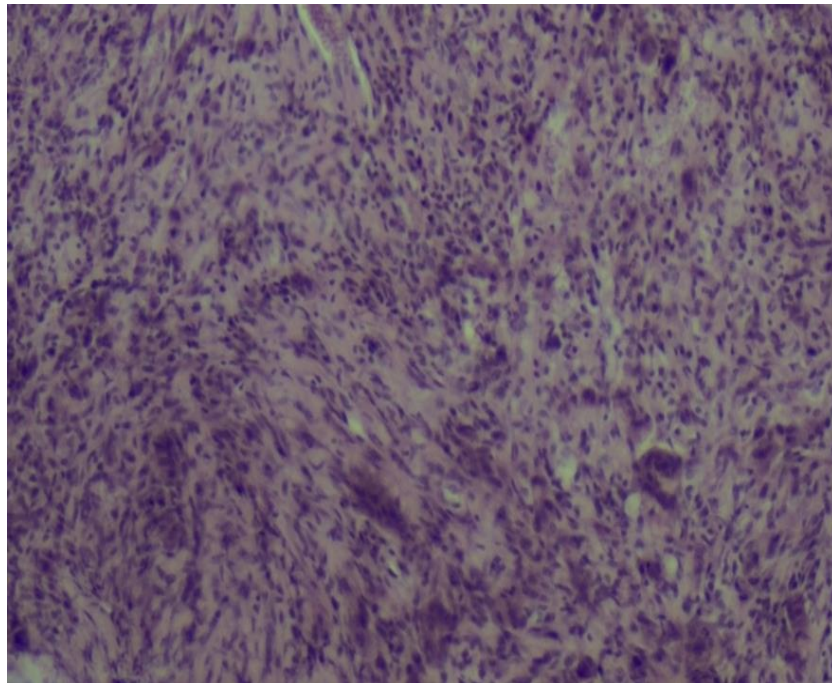


Рис. 4.7. Зріла грануляційна тканина з ділянки регенерату. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 100$

При імуногістохімічному дослідженні серед поліморфної клітинної інфільтрації були виявлені CD20⁺-, CD3⁺-, CD68⁺-, CD86⁺-, CD163⁺-клітини. Порівняно з 3-ою добою абсолютна кількість CD20⁺-, CD68⁺-клітин, відносна кількість CD86⁺-, CD163⁺-клітин не змінювалася ($p > 0,05$), проте збільшувалася ($p < 0,05$) абсолютна кількість CD3⁺-клітин. Серед фенотипів макрофагів, як і на 3 добу, було визначено превалювання ($p < 0,05$) кількості M1-макрофагів над кількістю M2-макрофагів.

У кістковій тканині з окістям, що межували з кістковою порожниною, порівняно з 3 добою ступінь вираженості альтеративних змін не змінювався і, відповідно, не змінювалося ($p > 0,05$) середнє значення коефіцієнту яскравості $0,66 \pm 0,001$; у дифузній поліморфній клітинній інфільтрації збільшувалася кількість моноцитів, лімфоцитів, макрофагів, клітин фібробластичного диферону; наростала проліферативна активність остеогенних клітин періостальної та ендостальної поверхонь кісткової тканини, що призводило до формування остеогенної фіброретикулярної тканини, яка росла у напрямку до кісткової порожнини (табл. 4.6)

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺-клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
227,8±19,57	82,2±1,33	285,2±3,00	82,3±7,66	17,7±7,66

На 14-ту добу експерименту регенерат у кістковій порожнині був представлений зрілою грануляційною, сполучною, остеогенною фіброретикулярною, пластинчатою кістковою тканинами, серед яких превалювали остеогенна фіброретикулярна та пластинчата кісткова тканини. Порівняно з 7-ою добою у цих тварин у регенераті вміст грануляційної та сполучної тканин зменшувався. Формування остеогенної фіброретикулярної та пластинчатої кісткової тканин часто визначалося у ділянках скупчення кісткового трансплантату, кількість якого не зменшувалася порівняно з попереднім експериментальним терміном.

У пластинчатій кістковій тканині регенерату при морфометрії було визначено превалювання ($p < 0,05$) питомого об'єму кісткових трабекул ((60,4±2,35)%) над питомим об'ємом міжтрабекулярного простору ((39,6±2,35)%).

Під час подальшого морфометричного дослідження міжтрабекулярного простору було визначено, що питомий об'єм останнього, заповнений сполучною тканиною, становив (85,4±2,98)%, а питомий об'єм міжтрабекулярного простору з вогнищами гемопоезу – (14,6±2,98)%.

В регенераті визначалася дифузна поліморфна клітинна інфільтрація, в якій, порівняно з 7-ою добою, збільшувалася кількість моноцитів, лімфоцитів, макрофагів, клітин фібробластичного ряду, гігантських

багатоядерних клітин за типом сторонніх тіл, та зменшувалася кількість нейтрофільних лейкоцитів.

При імуногістохімічному дослідженні серед вище зазначеної клітинної інфільтрації були виявлені CD20⁺-, CD3⁺-, CD68⁺-, CD86⁺-, CD163⁺-клітини. Порівняно з 7-ою добою у цих тварин абсолютна кількість CD20⁺-клітин не змінювалася ($p > 0,05$), однак збільшувалася ($p < 0,05$) абсолютна кількість CD3⁺- та CD68⁺-клітин; відносна кількість CD86⁺- та CD163⁺-клітин мала тенденцію ($p > 0,05$), відповідно, до зменшення та збільшення (табл. 4.7). Серед фенотипів макрофагів превалювала ($p < 0,05$) відносна кількість CD86⁺-клітин над кількістю CD163⁺-клітин.

Таблиця 4.7

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺-клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
279,8±15,60	83,7±1,02	336,5±8,12	70,8±11,58	29,2±11,50

У частині полів зору навкруги кісткового трансплантату формувалася сполучнотканинна капсула, в якій визначалася клітинна інфільтрація, представлена моноцитами, лімфоцитами, макрофагами, клітинами фібробластичного ряду, гігантськими багатоядерними клітинами за типом сторонніх тіл та поодинокими нейтрофільними лейкоцитами (рис. 4.8).

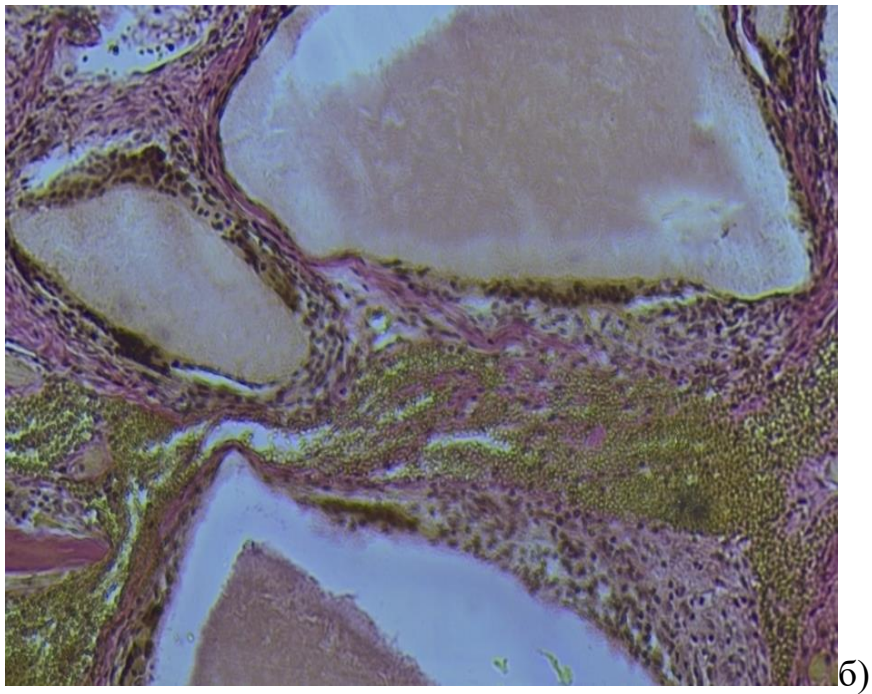
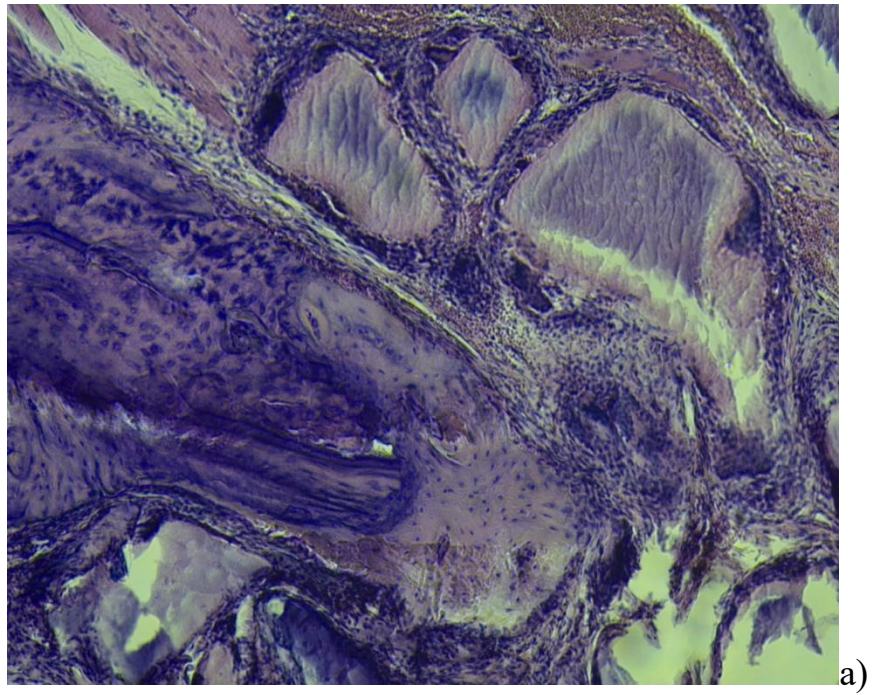


Рис. 4.8. Сполучнотканинна капсула з поліморфною клітинною інфільтрацією навкруги кісткового трансплантату. Забарвлення гематоксиліном та еозином (а), пікрофуксином за ван Гізоном, а)×400, б)×400

У кістковій тканині, що межувала з порожниною, порівняно з 7-ою добою наростали процеси кісткоутворення, зменшувався ступінь вираженості поліморфної клітинної інфільтрації, зменшувалися альтеративні зміни,

зменшувався ($p < 0,05$) коефіцієнт яскравості ($0,64 \pm 0,008$) у кісткових трабекулах, що свідчило про наростання їх ступеня мінералізації.

На 28-му добу експерименту регенерат, що заповнював кісткову порожнину, був представлений сполучною, остеогенною фіброретикулярною та пластинчатою кісткової тканинами, серед яких превалювала остання. Порівняно з попереднім терміном у цих тварин у регенераті зменшувався вміст сполучної тканини та збільшувався вміст пластинчатої кісткової тканини. Частим виявилось формуванням остеогенної фіброретикулярної та пластинчатої кісткової тканин в локусах розташування кісткового регенерату. Навкруги останнього в частині полів зору формувалася сполучнотканинна капсула.

Пластинчата кісткова тканина при оглядовій мікроскопії характеризувалася неупорядкованою локалізацією кісткових балок, що нерівномірно забарвлювалися гематоксиліном та еозином. Дана тканина при морфометрії характеризувалася, як і на 14-ту добу, превалювання ($p < 0,05$) питомого об'єму кісткових трабекул ($(70,5 \pm 1,79)\%$) над питомим об'ємом міжтрабекулярного простору ($(29,5 \pm 1,79)\%$). Також при морфометрії було визначено превалювання ($p < 0,05$) питомого об'єму міжтрабекулярного простору, заповненого сполучною тканиною ($(74,7 \pm 3,12)\%$), порівняно з питомим об'ємом міжтрабекулярного простору, заповненого гемопоетичною тканиною ($(25,3 \pm 3,12)\%$). Порівняно з 14-ою добою у даних тварин у регенераті питомий об'єм кісткових трабекул збільшувався ($p < 0,05$), а питомий об'єм міжтрабекулярного простору зменшувався ($p < 0,05$); питомий об'єм міжтрабекулярного простору, заповненого сполучною тканиною, зменшувався ($p < 0,05$), а питомий об'єм міжтрабекулярного простору, заповненого гемопоетичною тканиною, збільшувався ($p < 0,05$).

У вище зазначених тканинах регенерату була виявлена помірно виражена дифузна клітинна інфільтрація, яка при оглядовій мікроскопії була представлена моноцитами, лімфоцитами, макрофагами, клітинами

фібробластичного ряду, гігантськими багатоядерними клітинами за типом сторонніх тіл, поодинокими нейтрофільними лейкоцитами.

При імуногістохімії серед зазначеної інфільтрації визначалися CD20⁺-, CD3⁺-, CD68⁺-, CD86⁺-, CD163⁺-клітини (табл. 4.8). Порівняно з 14-ою добою на 28-му добу не змінювалася ($p > 0,05$) абсолютна кількість CD20⁺-клітин, збільшувалася ($p < 0,05$) абсолютна кількість CD3⁺- та CD68⁺-клітин, зменшувалася ($p < 0,05$) відносна кількість CD86⁺-клітин, збільшувалася ($p < 0,05$) відносна кількість CD163⁺-клітин. Серед CD86⁺-та CD163⁺-клітин превалювала ($p < 0,05$) відносна кількість CD86⁺-клітин.

Таблиця 4.8

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺-клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
311,8±13,04	84,3±0,88	374,2±6,57	56,3±2,94	43,7±2,94

У кістковій тканині, що межувала з порожниною, порівняно з 14-ої добою наростали процеси кісткоутворення, зменшувався ступінь вираженості поліморфної клітинної інфільтрації, зменшувалися дистрофічні зміни, наростали процеси мінералізації кісткових трабекул, про що свідчило зменшення коефіцієнту яскравості ($0,59 \pm 0,008$).

Висновки

Проведене дослідження дозволило виявити морфологічні особливості процесів загоєння кісткового дефекту в нижній щелепі щурів у випадках заповнення його синтетичним кістковим трансплантатом «Біомін ГТ» (РАПД, Україна), до складу якого входять гідроксиапатит та β-трикальцій фосфат. Так, з 3-ої по 28-му добу експерименту в кістковій порожнині

відбувалося зменшення вмісту фрагментів крові та альтеративнозмінених тканин; зменшення ступеня вираженості гемодинамічних порушень, поліморфної клітинної інфільтрації, в якій зменшувалася кількість нейтрофільних лейкоцитів, збільшувалася кількість моноцитів, клітин фібробластичного диферону, гігантських багатоядерних клітин за типом сторонніх тіл, CD3⁺-клітин, CD68⁺-клітин (з 7-ої по 28-му добу), CD86⁺- та CD163⁺-клітин (з 14-ої по 28-му добу), серед яких превалювали CD86⁺-клітини; дозрівання грануляційної тканини і перетворення її в сполучну тканину, вміст якої зменшувався; збільшення вмісту остеогенної фіброретикулярної тканини (з 7-ої по 14-ту добу) з подальшим перетворенням її в пластинчасту кісткову тканину; збільшення (з 14-ої по 28-му добу) вмісту пластинчастої кісткової тканини, в якій збільшувався вміст питомого об'єму кісткових трабекул та зменшувався вміст питомого об'єму міжтрабекулярного простору; зменшувався питомий об'єм міжтрабекулярного простору, заповненого сполучною тканиною, та збільшувався питомий об'єм міжтрабекулярного простору, заповненого гемопоетичною тканиною.

У кістковій тканині, що межувала з порожниною, з 3-ої по 28-му добу експерименту зменшувався ступінь вираженості альтеративних змін, поліморфної клітинної інфільтрації, в якій зменшувалася кількість нейтрофільних лейкоцитів, збільшувалася кількість моноцитів, клітин фібробластичного диферону, лімфоцитів, макрофагів; наростали процеси кісткоутворення; наростали процеси мінералізації кісткових трабекул (з 7-ої по 28-му добу), про що свідчило зменшення коефіцієнту яскравості у кісткових трабекулах.

Проведений порівняльний аналіз одержаних результатів у групах 1 і 2 виявив, що у групі 2 порівняно з групою 1 у кістковій порожнині відмічалися

1) більш виражені процеси активізації морфофункціонального стану, по-перше, клітин фібробластичного ряду, що маніфестувало більш

активними процесами дозрівання грануляційної тканини та перетворення її в сполучну тканину; по-друге, остеокластів, що маніфестувало активними процесами резорбції альтеративнозміненої кісткової тканини; по-третє, остеогенних клітин, що проявлялося більшим вмістом у регенераті остеогенної фіброретикулярної та пластинчастої кісткової тканин;

2) більший вміст у кістковій порожнині CD3⁺-клітин, CD68⁺-клітин (з 7-ої по 28-му добу);

3) більше значення питомого об'єму кісткових трабекул і менше значення питомого об'єму міжтрабекулярного простору на 14-ту та 28-му добу у пластинчатій кістковій тканині з ділянки регенерату.

Отже, заповнення кісткового дефекту синтетичним кістковим трансплантатом «Біомін ГТ» дещо стимулює репаративний остеогенез, проте не призводить до формування повноцінного кісткового регенерату на 28-му добу експерименту.

4.3 Морфологічні особливості репаративного остеогенезу в нижній щелепі щурів групи 3

На 3-тю добу експерименту в нижній щелепі щурів групи 3 візуалізувалася кісткова порожнина, в якій були виявлені елементи крові, альтеративнозмінені епітеліальні та мезенхімальні тканини (епітеліальний шар, м'язова, сполучна та кісткова тканини) з дифузною інфільтрацією нейтрофільними лейкоцитами, моноцитами, опасистими клітинами, лімфоцитами, макрофагами, клітинами фібробластичного ряду. Серед останніх превалювали моноцити, макрофаги, лімфоцити та клітини фібробластичного ряду. Подальше імуногістохімічне дослідження виявило в поліморфній клітинній інфільтрації CD20⁺-, CD3⁺-, CD68⁺-, CD86⁺-, CD163⁺-клітини (рис. 4.9).

Результати підрахунку кількості імунопозитивних клітин зазначено в табл. 4.9. Серед CD86⁺-та CD163⁺-клітин превалювала (p<0,05) відносна кількість CD86⁺-клітин.

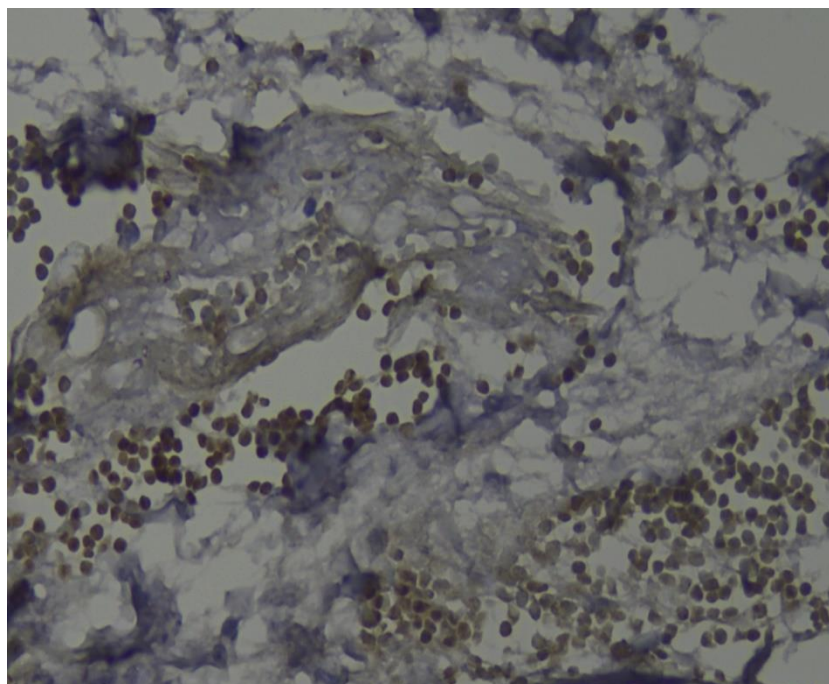


Рис. 4.9. CD3⁺-клітини у посттравматичному регенераті нижньої щелепи щура. Імуногістохімічне дослідження з моноклональним антитілом до CD3, ×400

Таблиця 4.9

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺-клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
295,2±25,34	79,3±1,84	339,3±10,66	57,8±6,49	42,2±6,49

У порожнині кісткового дефекту також відмічалася незріла грануляційна тканина з гемодинамічними порушеннями. В частині полів зору в грануляційній тканині відмічалися остеокласти, що здійснювали резорбцію

альтеративнозмінених фрагментів кісткової тканини, що локалізувалася в порожнині дефекту та оточувала кістковий дефект (рис. 4.10).

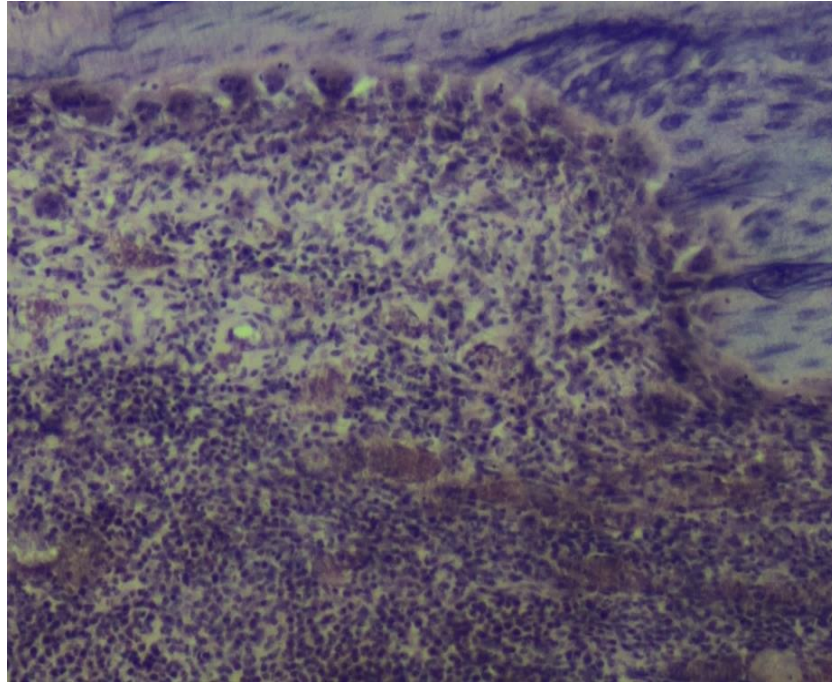


Рис. 4.10. Поліморфна клітинна інфільтрація та незріла грануляційна тканина в порожнині кісткового дефекту. Резорбція остеокластами пошкодженої кісткової тканини, що межує з кістковою порожниною. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 400$

У кістковій тканині, що оточувала кісткову порожнину, були виявлені помірно виражені або виражені дистрофічно-некротичні зміни, що призводили до змін забарвлення кісткової тканини гематоксиліном та еозином. Коефіцієнт яскравості в кісткових трабекулах становив $0,66 \pm 0,009$. В окісті були виявлені альтеративні зміни. В зазначених тканинах також відмічалися гемодинамічні порушення, дифузна поліморфна клітинна інфільтрація, в якій превалювала кількість моноцитів, макрофагів, лімфоцитів, клітин фібробластичного ряду над кількістю нейтрофільних лейкоцитів.

На 7-му добу порівняно з попереднім терміном у кістковій порожнині значно зменшувався вміст фрагментів крові та альтеративнозмінених тканин; зменшувався ступінь вираженості гемодинамічних порушень; збільшувався ступінь вираженості клітинної інфільтрації, серед якої збільшувалася кількість моноцитів, макрофагів, лімфоцитів, клітин фібробластичного ряду та значно зменшувалася кількість нейтрофільних лейкоцитів; збільшувався вміст грануляційної тканини, яка ставала зрілою, з'являлися сполучна та остеогенна фіброретикулярна тканини. В частині полів зору визначалося превалювання остеогенної фіброретикулярної тканини серед вище зазначених тканин, що відбувалося в результаті активації морфофункціонального стану остеогенних клітин.

При імуногістохімічному дослідження серед клітин поліморфної клітинної інфільтрації, що була виявлена при оглядовій мікроскопії, відмічалися CD20⁺-, CD3⁺-, CD68⁺-, CD86⁺-, CD163⁺-клітини. Результати підрахунку імунопозитивних клітин зазначені в табл. 4.10.

Таблиця 4.10

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺-клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
334,5±9,79	80,7±0,71	385,7±10,73	49,7±5,82	50,3±5,82

Серед фенотипів макрофагів CD86⁺- та CD163⁺-клітин не було виявлено ($p>0,05$) значимих відмінностей в їх відносних кількостях. Порівняно з 3 добою у даних тварин абсолютна кількість CD20⁺-клітин не змінювалася ($p>0,05$), збільшувалася ($p<0,05$) абсолютна кількість CD3⁺-,

CD68⁺-клітин; зменшувалася ($p < 0,05$) відносна кількість CD86⁺-клітин та збільшувалася ($p < 0,05$) відносна кількість CD163⁺-клітин.

У кістковій тканині, що межувала з порожниною, визначалися помірно виражені дистрофічні зміни. Коефіцієнт яскравості в кісткових трабекулах мав значимо ($p < 0,05$) менше значення ($0,62 \pm 0,015$) порівняно з 3-ою добою, що свідчило про наростання ступеня мінералізації кісткової тканини. Також порівняно з 3 добою реєструвалося збільшення ступеня вираженості поліморфної клітинної інфільтрації, представленої моноцитами, макрофагами, лімфоцитами та клітинами фібробластичного ряду, а також поодинокими нейтрофільними лейкоцитами; збільшення кількості та наростання проліферативного потенціалу остеогенних клітин на періостальній та ендостальній поверхнях кісткової тканини, що призводило до формування остеогенної фіброретикулярної тканини. Шари останньої анастомозували між собою та росли у напрямку до порожнини дефекту (рис. 4.11).

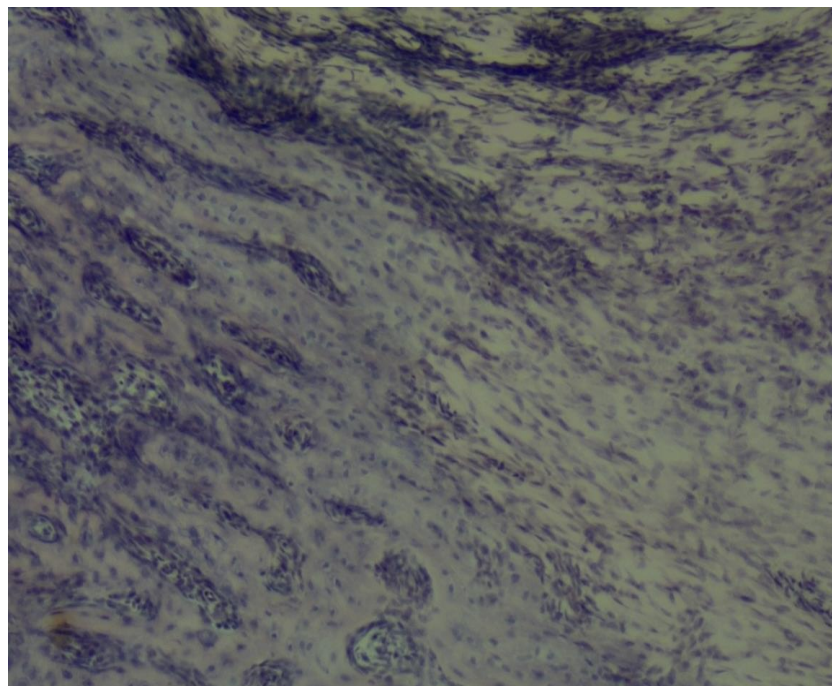


Рис. 4.11. Пласти остеогенної фіброретикулярної тканини анастомозують між собою та заповнюють порожнину кісткового дефекту. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 100$

На 14-ту добу регенерат, що заповнював кістковий дефект, був представлений грануляційною, сполучною, остеогенною фіброретикулярною та пластинчатою кісткової тканинами, серед яких превалював вміст пластинчатої кісткової тканини. Кісткові трабекули останньої неоднорідно забарвлювалися гематоксиліном та еозином.

При морфометричному дослідженні пластинчатої кісткової тканини регенерату було відмічено, по-перше, превалювання ($p < 0,05$) в ній питомого об'єму кісткових трабекул ($(66,3 \pm 2,51)\%$) над питомим об'ємом міжтрабекулярного простору ($(33,7 \pm 2,51)\%$); по-друге, превалювання ($p < 0,05$) питомого об'єму міжтрабекулярного простору, заповненого сполучною тканиною ($(64,9 \pm 2,48)\%$), над питомим об'ємом міжтрабекулярного простору з вогнищами гемопоезу ($(35,1 \pm 2,48)\%$).

У цих тварин порівняно з 7-мою добою в регенераті також зменшувався ступінь вираженості гемодинамічних порушень; в дифузній клітинній інфільтрації збільшувалася кількість моноцитів, макрофагів, лімфоцитів та клітин фібробластичного ряду. Серед даної інфільтрації, як і на 7-му добу, визначалися CD20⁺-, CD3⁺-, CD68⁺-, CD86⁺-, CD163⁺-клітини, середні значення кількості яких наведені в табл. 4.11.

Таблиця 4.11

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺-клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
357,2±17,38	100,8±2,24	428,2±6,61	33,3±6,06	66,7±6,06

При аналізі результатів імуногістохімічного дослідження було визначено, по-перше, превалювання ($p < 0,05$) серед фенотипів макрофагів

відносної кількості CD163⁺-клітин; по-друге, збільшення ($p < 0,05$), порівняно з 7-ою добою, абсолютної кількості CD20⁺-, CD3⁺-, CD68⁺-клітин, зменшення ($p < 0,05$) відносної кількості CD86⁺-клітин та збільшення ($p < 0,05$) відносної кількості CD163⁺-клітин.

У кістковій тканині, що локалізувалася навкруги сформованої порожнини, реєструвалися помірні дистрофічні зміни. Порівняно з попереднім терміном у цій тканині збільшувався ступінь вираженості поліморфної клітинної інфільтрації та значно наростав проліферативний потенціал остеогенних клітин; зменшувався ($p < 0,05$) коефіцієнт яскравості ($0,58 \pm 0,007$) в кісткових трабекулах.

На 28-му добу посттравматичний регенерат був представлений сполучною, остеогенною фіброретикулярною та пластинчатою кістковою тканинами. Порівняно з 14-ою добою серед останніх зменшувався вміст сполучної тканини, збільшувався вміст остеогенної фіброретикулярної та пластинчастої кісткової тканин (рис. 4.12). Серед цих тканин реєструвалася дифузна помірно виражена клітинна інфільтрація, представлена моноцитами, макрофагами, лімфоцитами, клітинами фібробластичного ряду.

При імуногістохімії серед клітин були визначені CD20⁺-, CD3⁺-, CD68⁺-, CD86⁺-, CD163⁺-клітини, результати підрахунку яких наведені в (табл. 4.12.) У даних тварин порівняно з 14-ою добою збільшувалася ($p < 0,05$) абсолютна кількість CD20⁺-, CD3⁺-, CD68⁺-клітин, зменшувалася ($p < 0,05$) відносна кількість CD86⁺-клітин та збільшувалася ($p < 0,05$) відносна кількість CD163⁺-клітин.

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺-клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
387,3±12,75	127,8±1,58	470,3±4,15	18,3±5,16	81,7±5,16

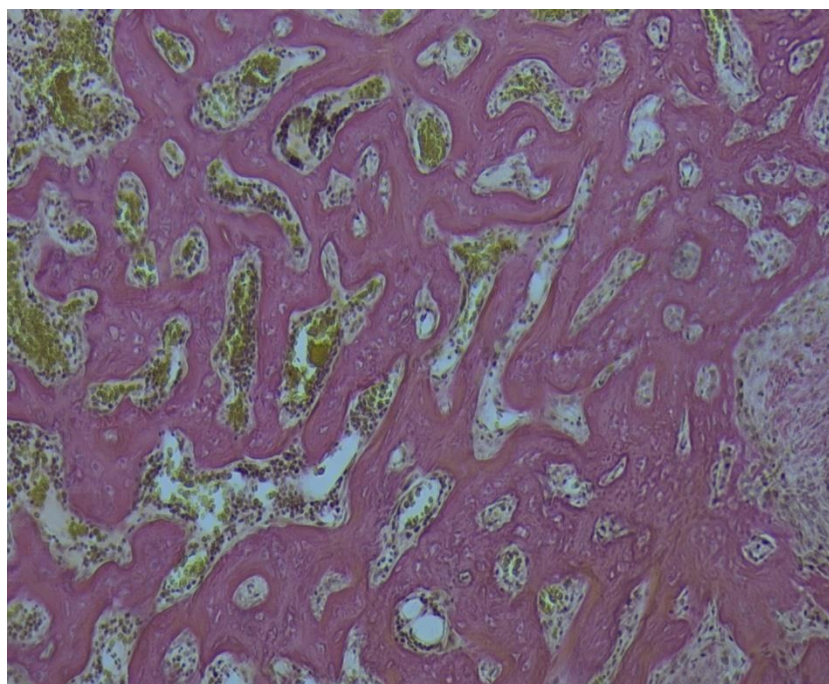


Рис. 4.12. Пластинчата кісткова тканина з ділянки регенерату. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном, ×100

При морфометричному дослідженні пластинчата кісткова тканина регенерату характеризувалася превалюванням ($p < 0,05$) питомого об'єму кісткових трабекул ((75,8±2,55)%) над питомим об'ємом міжтрабекулярного простору ((24,2±2,55)%); превалюванням ($p < 0,05$) питомого об'єму міжтрабекулярного простору, заповненого вогнищами гемопоезу

((61,1±2,14)%), над питомим об'ємом міжтрабекулярного простору, заповненого сполучною тканиною ((38,9±2,14)%) (рис. 4.12). Порівняно з 14-ою добою у цих тварин збільшувався ($p<0,05$) питомий об'єм кісткових трабекул; зменшувався ($p<0,05$) питомий об'єм міжтрабекулярного простору; зменшувався ($p<0,05$) питомий об'єм міжтрабекулярного простору, заповненого сполучною тканиною; збільшувався ($p<0,05$) питомий об'єм міжтрабекулярного простору, заповненого гемо поетичною тканиною.

Порівняно з 14-ту добою на 28-му добу у кістковій тканині, що локалізувалася навкруги порожнини, збільшувався ступінь вираженості поліморфної клітинної інфільтрації, що характеризувалася макрофагами, лімфоцитами, клітинами фібробластичного ряду; наростав проліферативний потенціал остеогенних клітин; наростали процеси мінералізації кісткових трабекул, про що свідчило зменшення ($p<0,05$) коефіцієнту яскравості (0,53±0,012).

Висновки

Проведене дослідження дозволило виявити морфологічні особливості репаративного остеогенезу в нижній щелепі щурів у випадках ін'єкцій тималіном м'яких тканин, що оточують кісткову порожнину.

Лікувальні заходи, що були проведені в цій групі, у вигляді обколювання м'яких тканин тималіном, що оточують порожнину, стимулювали репаративний остеогенез у нижній щелепі щурів, про що свідчить проведений порівняльний аналіз одержаних результатів у групі 3 порівняно з групами 1-ої і 2-ої. Так, у групі 3 порівняно з групами 1-ої і 2-ої на 3-тю добу у порожнині дефекту визначалися більший вміст грануляційної тканини; менш виражена поліморфна клітинна інфільтрація, що характеризувалася меншим вмістом нейтрофільних лейкоцитів та більшим вмістом моноцитів, CD68⁺-клітин, тобто загальної популяції макрофагів, серед яких кількість CD86⁺-клітин мала менше значення, а кількість CD163⁺-клітин мала більше значення, лімфоцитів (CD3⁺-клітин), клітин

фібробластичного ряду; більш виражена активація морфофункціонального стану остеокластів; менш виражені дистрофічно-некротичні зміни та гемодинамічні порушення в оточуючій порожнині кісткової тканині з наявністю менш вираженої дифузної клітинної інфільтрації, в якій превалювала кількість моноцитів, макрофагів, лімфоцитів, клітин фібробластичного ряду над кількістю нейтрофільних лейкоцитів.

На 7-му добу були виявлені більш активні процеси очищення кісткової порожнини від фрагментів крові та альтеративнозмінених тканин; активні процеси дозрівання грануляційної тканини регенерату та її перетворення у сполучну тканину; більший вміст у регенераті остеогенної фіброретикулярної тканини; менш виражені гемодинамічні порушення у регенераті та оточуючій порожнині кісткової тканині; менш виражені дистрофічні зміни, більш активні процеси мінералізації кісткових трабекул пластинчастої кісткової тканини, що оточує кісткову порожнину, що маніфестувало меншим значенням коефіцієнту яскравості; більш активні процеси активізації морфофункціонального стану остеокластів та остеогенних клітин; серед поліморфної клітинної інфільтрації регенерату менший вміст нейтрофільних лейкоцитів, більший вміст моноцитів, CD68⁺-клітин, CD163⁺- та CD3⁺-клітин, клітин фібробластичного ряду, менший вміст CD86⁺-клітин; превалювання кількості моноцитів, макрофагів, лімфоцитів, клітин фібробластичного ряду над кількістю нейтрофільних лейкоцитів у клітинній інфільтрації кісткової тканини, що оточує порожнину.

На 14-ту та 28-му добу відмічалось менший вміст у регенераті грануляційної та сполучної тканин та більший вміст остеогенної фіброретикулярної та пластинчастої кісткової тканин; більше значення питомого об'єму кісткових трабекул, менше значення питомого об'єму міжтрабекулярного простору, менше значення питомого об'єму міжтрабекулярного простору, заповненого сполучною тканиною, більше

значення питомого об'єму міжтрабекулярного простору, заповненого гемопоетичною тканиною, у пластинчатій кістковій тканині регенерату; більша активація морфофункціонального стану остеогенних клітин у регенераті та кістковій тканині, що оточує порожнину; більш активні процеси мінералізації кісткової тканини, що оточує порожнину, про що свідчило менше значення коефіцієнту яскравості; серед поліморфної клітинної інфільтрації регенерату більша кількість моноцитів, клітин фібробластичного ряду, CD20⁺-клітин, CD3⁺-клітин, CD68⁺-клітин, CD163⁺-клітин, менша кількість CD86⁺-клітин.

4.4 Морфологічні особливості репаративного остеогенезу в нижній щелепі щурів групи 4

На 3-тю добу у щурів групи 4 у нижній щелепі було виявлено кісткову порожнину, в якій відмічалися маси фібрину, гемолізовані еритроцити зі стертим малюнком, альтеративнозмінені тканині та вогнища незрілої грануляційної тканини, що часто локалізувалася навкруги гранул кісткового трансплантату. В частині полів зору в грануляційній тканині були виявлені ознаки порушення кровообігу. Також в порожнині відмічалася дифузна клітинна інфільтрації, яка при оглядовій мікроскопії препаратів, забарвлених гематоксиліном та еозином, імуногістохімічному дослідження, характеризувалася наявністю моноцитів, CD68⁺-, CD86⁺-, CD163⁺-, CD3⁺-, CD20⁺-клітин, клітин фібробластичного ряду, незначної кількості нейтрофільних лейкоцитів. Результати аналізу імуногістохімічних реакцій наведені в табл. 4.13. Відносна кількість CD86⁺-клітин превалювала ($p < 0,05$) над відносною кількістю CD163⁺-клітин.

Таблиця 4.13

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺-клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
288,7±41,41	82,2±0,98	344,2±2,43	58,3±6,25	41,7±6,25

Знаковим для даного терміну експерименту була наявність в порожнині, а також в оточуючій її кістковій тканині остеокластів, що резорбували ушкоджену кісткову тканину.

Кісткова тканина, що межувала з порожниною, характеризувалася гемодинамічними порушеннями; помірно-вираженими дистрофічними та некротичними змінами; наявністю дифузної поліморфної клітинної інфільтрації, в якій превалювала кількість моноцитів, макрофагів, лімфоцитів, клітин фібробластичного ряду над кількістю нейтрофільних лейкоцитів. Середнє значення коефіцієнту яскравості в кісткових трабекулах становило $0,65 \pm 0,010$ (рис. 4.13).

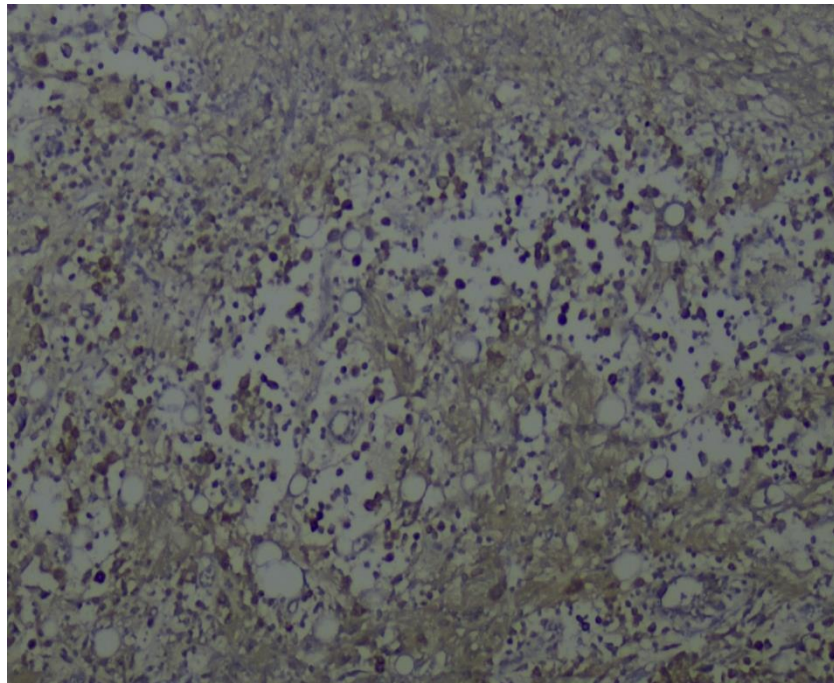


Рис. 4.13. CD68⁺-клітини у посттравматичному регенераті. Імуногістохімічне дослідження з моноклональним антитілом до CD68, $\times 100$

На 7-му добу значно зменшувався в порожнині вміст фрагментів крові та альтеративнозмінених тканин, ознаки порушення кровообігу зменшувалися як у порожнині, так і в її оточуючій кістковій тканині; збільшувався вміст грануляційної тканини, яка ставала зрілою, з'являлася сполучна та остеогенна фіброретикулярна тканини, серед яких остання була превалюючою. Де-не-де в полях сполучної тканини визначалися поодинокі, ізольовані один від одного, слабо мінералізовані кісткові балки (рис. 4.14).

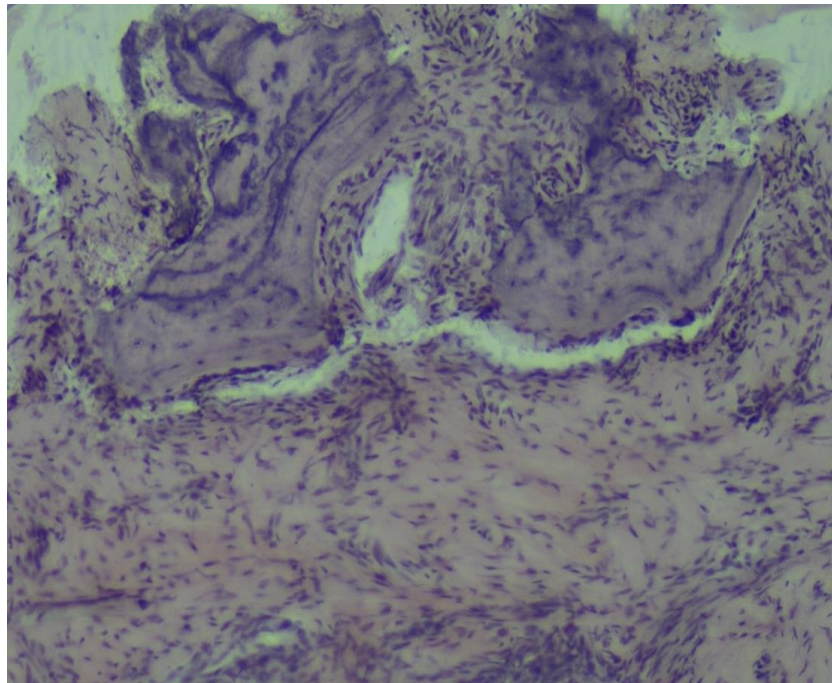


Рис. 4.14. Одиничні, ізольовані один від одного, слабо мінералізовані кісткові балки в полях сполучної тканини. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 400$

Сформований регенерат характеризувався наявністю дифузної поліморфної клітинної інфільтрації. Остання характеризувалася наявністю моноцитів, макрофагів, лімфоцитів, клітин фібробластичного ряду, гігантських багатоядерних клітин за типом сторонніх тіл, незначної кількості нейтрофільних лейкоцитів.

При імуногістохімії серед клітинної інфільтрації визначалися CD68⁺-, CD86⁺-, CD163⁺-, CD3⁺-, CD20⁺-клітин (табл. 4.14). Відносна кількість CD86⁺-клітин не відрізнялася ($p > 0,05$) від відносної кількості CD163⁺-клітин.

Порівняно з 3 добою у даних тварин абсолютна кількість CD20⁺-клітин не змінювалася ($p > 0,05$), збільшувалася ($p < 0,05$) абсолютна кількість CD3⁺-, CD68⁺-клітин; зменшувалася ($p < 0,05$) відносна кількість CD86⁺-клітин та збільшувалася ($p < 0,05$) відносна кількість CD163⁺-клітин.

Таблиця 4.14

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺-клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
338,5±10,82	83,2±1,08	393,8±5,17	49,8±5,49	50,2±5,49

У кістковій тканині, що межувала з порожниною, порівняно з попереднім експериментальним терміном зменшувався ($p < 0,05$) коефіцієнт яскравості ($0,61 \pm 0,015$) у кісткових трабекулах; зменшувався ступінь вираженості дистрофічних змін; наростала проліферативна активність остеогенних клітин; збільшувався ступінь вираженості поліморфної клітинної інфільтрації, представлені моноцитами, макрофагами, лімфоцитами, клітинами фібробластичного ряду, поодинокими нейтрофільними лейкоцитами.

На 14-ту добу регенерат був представлений переважно остеогенною фіброретикулярною та пластинчатою кістковою тканинами, а місцями грануляційною та сполучною тканинами; на 28-му добу – переважно пластинчатою кістковою тканиною, а де-не-де остеогенною фіброретикулярною тканиною з ділянками сполучної тканини. Кількість гранул кісткового трансплантату не змінювалася. Часто навкруги даних гранул формувалася сполучнотканинна капсула з дифузною поліморфною клітинною інфільтрацією. Остання реєструвалася також у самому регенераті. В динаміці (на 14-ту добу порівняно з 7-ою добою, на 28-му добу порівняно з 14-ою добою) серед дифузної клітинної інфільтрації збільшувалася кількість моноцитів, збільшувалася ($p < 0,05$) абсолютна кількість CD68⁺-клітин, зменшувалася ($p < 0,05$) відносна кількість CD86⁺-клітин, збільшувалася

($p < 0,05$) відносна кількість CD163⁺-клітин, збільшувалася ($p < 0,05$) абсолютна кількість CD20⁺- та CD3⁺-клітин (табл. 4.15, 4.16). Серед фенотипів макрофагів превалювала ($p < 0,05$) відносна кількість CD163⁺-клітин.

Таблиця 4.15

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺-клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин на 14-ту добу

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
359,7±8,50	108,2±2,41	435,2±6,39	34,5±11,8	65,5±11,8

Таблиця 4.16

Середні значення абсолютної кількості CD68⁺-, CD20⁺-, CD3⁺-клітин та відносної кількості CD86⁺-, CD163⁺-клітин на 28-му добу

Абсолютна кількість			Відносна кількість	
CD68 ⁺ - клітини	CD20 ⁺ - клітини	CD3 ⁺ - клітини	CD86 ⁺ - клітини	CD163 ⁺ - клітини
383,7±17,14	133,3±1,65	473,7±7,33	16,8±5,31	83,2±5,31

Пластинчата кісткова тканина з регенерату характеризувалася превалюванням ($p < 0,05$) в ній питомого об'єму кісткових трабекул (на 14-ту добу – (72,2±2,20)%, на 28-му добу – (81,3±2,63)%) над питомим об'ємом міжтрабекулярного простору (на 14-ту добу – (27,8±2,20)%, на 28-му добу – (18,7±2,63)%). Також зазначена тканина характеризувалася на 14-ту добу превалювання ($p < 0,05$) питомого об'єму міжтрабекулярного простору, заповненого сполучною тканиною ((66,7±2,33)%), над питомим об'ємом міжтрабекулярного простору з вогнищами гемопоезу ((33,3±2,33)%); на 28-му добу – превалюванням ($p < 0,05$) питомого об'єму міжтрабекулярного

простору, заповненого вогнищами гемопоезу ((62,9±1,99)%), над питомим об'ємом міжтрабекулярного простору, заповненого сполучною тканиною ((37,1±1,99)%). На 28-му добу порівняно з 14-ою добою збільшувався (p<0,05) питомий об'єм кісткових трабекул, зменшувався (p<0,05) питомий об'єм міжтрабекулярного простору, зменшувався (p<0,05) питомий об'єм міжтрабекулярного простору, заповненого сполучною тканиною, збільшувався (p<0,05) питомий об'єм міжтрабекулярного простору, заповненого вогнищами гемопоезу.

У кістковій тканині, що локалізувалася навкруги порожнини, збільшувався ступінь вираженості поліморфної клітинної інфільтрації, що характеризувалася макрофагами, лімфоцитами, клітинами фібробластичного ряду; наростав проліферативний потенціал остеогенних клітин; наростали процеси мінералізації кісткових трабекул, про що свідчило зменшення (p<0,05) коефіцієнту яскравості (на 14-ту добу – 0,56±0,010; на 28-му добу – 0,53±0,008). Коефіцієнт яскравості мав значимо (p<0,05) менше значення на 28-му добу порівняно з 14-ою добою.

Висновки

Проведене комплексне дослідження дозволило виявити морфологічні особливості репаративного остеогенезу нижньої щелепи щурів за умов заповнення кісткового дефекту синтетичним кістковим трансплантатом та обколювання оточуючих м'яких тканин тималіном.

Міжгруповий порівняльний аналіз одержаних цих в групах 3-ої та 4-ої виявив, що в групі 4 порівняно з групою 3 відмічається більш активна стимуляція репаративного остеогенезу в нижній щелепі щурів, про що говорять наступні факти: більш активна стимуляція морфофункціонального стану клітин фібробластичного ряду, остеокластів та остеогенних клітин, що маніфестувало більшою швидкістю дозрівання грануляційної тканини та перетворення її в сполучну тканину, більш ранньою появою в регенерації остеогенної фіброретикулярної тканини та її швидке перетворення у

пластинчасту кісткову тканину, в результаті чого у групі 4 порівняно з групою 3 на 14-ту та 28-му добу у пластинчастій кістковій тканині регенерату питомий об'єм кісткових трабекул мав більше значення, а питомий об'єм міжтрабекулярного простору мав менше.

Проведений порівняльний аналіз одержаних в групі 4 результатів з показниками груп 1-ої та 2-ої дозволив виокремити такі висновки:

1. Введення тималіну в м'які тканини, що оточують кістковий дефект нижньої щелепи, заповнений гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом, значно стимулює процес репаративного остеогенезу, що дозволяє рекомендувати цю методику в стоматології для лікування хворих з дефектами кісткової тканини нижньої щелепи. Стимуляція репаративного остеогенезу в нижній щелепі щурів відбувається за рахунок прискорення очищення порожнини кісткового дефекту від некротизованих тканин і фрагментів крові; зменшення кількості нейтрофільних лейкоцитів, збільшення кількості та морфофункціонального стану клітин фібробластного диферону; збалансованих змін (збільшення або зменшення) кількості та морфофункціонального стану кісткоутворюючих остеобластів і кісткорезорбуючих остеокластів залежно від стадії репаративного остеогенезу; активації процесів гемопоезу в пластинчастій кістковій тканині з регенерату; активізації процесів мінералізації кісткової тканини.

2. Обколювання тималіном м'яких тканин, що оточують кістковий дефект нижньої щелепи, заповнений гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом, стимулює місцеві імунні реакції в посттравматичному регенераті, що проявляється, по-перше, збільшенням кількості Т-лімфоцитів на 3-тю добу експерименту з їх подальшим наростанням до 28-ої доби; по-друге, збільшенням кількості В-лімфоцитів на 14 добу з подальшим їх наростанням до 28-ої доби; по-третє, збільшенням кількості макрофагів на 3-тю добу та їх наростанням до 28-ої доби; по-четверте, змінами фенотипів макрофагів (зменшенням кількості М1-макрофагів і збільшенням кількості

M2-макрофагів). Стимуляція місцевих імунних реакцій у посттравматичному регенераті може бути одним із механізмів активації репаративного остеогенезу нижньої щелепи щурів за умов проведення вище значених комплексних лікувальних заходів.

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дефекти кісткової тканини нижньої щелепи, що вимагають реконструкції, зустрічаються досить часто і зазвичай виникають внаслідок вроджених деформацій, запальних процесів, онкологічних захворювань, проведених хірургічних стоматологічних втручань, травматичних ушкоджень, зокрема вогнепальних поранень. Доведено, що серед структур щелепно-лицевого комплексу нижня щелепа ушкоджується найчастіше.

При видаленні зуба неминучим є ушкодження альвеолярної кістки. При цьому горизонтальна втрата кісткової тканини найчастіше відбувається швидше та більше порівняно з вертикальною втратою кісткової тканини, що призвело до розробки кількох методів горизонтальної кісткової аугментації, таких як GBR, розширення альвеолярного гребеня, дистракційний остеогенез і блокові трансплантанти.

Корекція втрати цілісності кісткової тканини після видалення зуба, ураження пародонту або травми здійснюється шляхом аугментації з використанням різноманітних біоматеріалів, що використовуються для заповнення кісткових дефектів. Сучасні дослідження зосереджені на вивченні шляхів підготовки та використанні різних типів людських або ксеногенних матеріалів та їх остеогенних властивостей.

В експериментальних і клінічних дослідженнях було оцінений остеогенний потенціал кістковозаміщуючих матеріалів і шляхи посилення їх остеоіндуктивних та остеокондуктивних властивостей для усунення дефектів нижньої щелепи. При цьому, встановлено необхідність корекції функції імунної системи при відновленні дефектів кісткової тканини при різних ушкодженнях, оскільки численні імунні реакції є взаємопов'язаними та

впливають на загоєння ран і регенерацію тканин. Вважається, що розуміння цих особливостей відкриє нові можливості для сприяння регенерації кісткової тканини та запобігання втрати її цілісності. Наведені дані свідчать, що застосування імунокорегуючого засобу тималіну призводить до підвищення імунологічного потенціалу на місцевому рівні. При цьому, вплив тималіну на репаративний остеогенез складних кісткових дефектів нижньої щелепи остаточно не встановлений, що потребує подальших поглиблених досліджень.

Одним з неінвазивних методів оцінки місцевого стану ротової порожнини та загального стану організму є дослідження такого біологічного матеріалу як ротова рідина [166]. Забір ротової рідини – це процедура дуже проста, яка не потребує багато часу, зусиль, а головне – безболісна для експериментальних тварин. Однак, дослідження основних біохімічних складових ротової рідини, лізоциму, захисних ферментів, муцину, специфічних біохімічних індикаторів метаболічного стану кісткової тканини, зокрема процесів репаративного остеогенезу відображає стан організму та вміст біологічно активних речовин у крові [167].

Завдяки існуючим сучасним технологіям і методикам, для дослідження вмісту біологічно активних речовин необхідні мікрокількість біологічного матеріалу [168].

Відомо, що одним з основних показників стану гуморального імунітету в ротовій порожнині є IgA, що синтезується плазматичними клітинами. Існує IgA у різних за будовою формах - IgA1 (90 %) та IgA2 (10 %). Причому відомо, що IgA2 синтезується В-клітинами, що знаходяться на слизових оболонках, зокрема ротової порожнини. Імуноглобулін А сприяє формуванню місцевого імунітету та має сироваткову й секреторну фракції.

У результаті проведеного дослідження було визначено, що вміст sIgA у ротовій рідині щурів контрольної групи склав 22,60 [19,50; 28,85] мг/л, а в IV групі на 28 добу 24,65 [19,78; 29,08] мг/л; що є свідченням позитивного впливу проведеного комплексного лікування із застосуванням тималіну та остеогенного гідроксиапатитвмісного матеріалу. А різниця вмісту sIgA між I та IV групами складала 52,6 %.

ЛФ відіграє важливу роль у процесах мінералізації твердих тканин зуба, кісткової тканини, гідролізує ортофосфорні моноєфіри та до органічних субстратів приєднує фосфор. Коферментами в зазначених реакціях є іони Mg^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} . Цей фермент міститься в усіх тканинах організму, особливо високий вміст ЛФ в кістковій тканині.

Активність загальної КФ у ротовій рідині та в біоптаті кісткової тканини нижньої щелепи експериментальних тварин визначали відповідно інструкції до набору реагентів «Гранум» Україна, м. Харків. Принцип методу: активність кислої фосфатази визначали модифікованим методом Хілмана.

При порівнянні значень активності КФ у слині щурів I та IV груп визначається різниця у 17,3 %. На 7 добу дослідження у слині щурів I та II груп спостерігалися практично однакові результати: залишалася підвищеною активність КФ у порівнянні з контролем на 96,5 %, а в III групі – на 81,3 % на тлі незначного зниження активності цього ферменту у порівнянні з 3 добою дослідження на 9,1 %, 5,5 %, 9,72 %, 7,9 % відповідно. У щурів IV групи на 14 добу: на 25,6 % відбувалося зниження активності ферменту у порівнянні з 3 добою дослідження, хоча цей показник відрізнявся від контрольної групи. Однак, статистично достовірно активність КФ знижувалася у щурів IV групи у порівнянні з I-III групами. У слині щурів I-III груп активність КФ була ще на високих значеннях й статистично значуще відрізнялася від цього показника у щурів контрольної групи. На 28 добу у щурів з модельованим дірчастим дефектом нижньої щелепи та щурів, яким заповнювали кістковий

дефект гідроксиапатитом, рівень активності КФ залишався на одному рівні, а саме на 81,7% та на 76% був вищим цього показника у контрольній групі. У щурів III групи – активність КФ залишалася на 66,2 % вище контролю. Найбільш значні позитивні зниження цього індикаторного показника метаболічних процесів в кістковій тканині визначали у щурів, яким заповнювали кістковий дефект гідроксиапатитом і проводили ін'єкції тималіну в оточуючі м'які тканини. Цей показник в IV групі статистично значуще відрізнявся від активності КФ у ротовій рідині щурів I-III груп експериментальних тварин, що свідчить про позитивну оцінку проведеної терапії.

Одним з дуже важливих показників стану кісткової тканини є специфічний остеокальцин – неколагеновий білок, що в основному міститься в кістках та дентині зубів [170].

У подальшому експерименті згідно завдань дослідження визначали в крові вміст остеокальцину як біохімічного маркера процесу формування кісткової тканини, використовувати отримані показники для оцінки активності остеобластів та репаративного остеогенезу нижньої щелепи.

У результаті визначення остеокальцину в крові щурів на третю добу дослідження після моделювання дірчастого дефекту кісткової тканини нижньої щелепи в усіх експериментальних групах і на 7 добу в щурів I та II групи визначено дисбаланс процесів, що забезпечують ремоделювання кісткової тканини, а саме превалювання процесів остеорезорбції над процесами остеосинтезу, про що свідчить знижений вміст в крові остеокальцину. Це також є свідченням про зниження органічної складової кісткової тканини, що знайшло підтвердження у зниженому вмісті в крові остеокальцину – біохімічного маркера остеогенезу.

Тільки на 14 та 28 добу спостерігається в крові щурів IV експериментальної групи значне зростання процесів репаративного остеогенезу, що свідчить про значне підвищення вмісту в сироватці крові остеокальцину.

Далі визначали індекс мінералізації кісткової тканини шляхом підрахунку співвідношення значень активності ЛФ до КФ, яке виражали в умовних одиницях (у.о.) [172].

Одним з важливих біохімічних маркерів диференціювання остеобластів і відображення процесів формування кісткової тканини є визначення активності ферменту лужної та кислої фосфатази у біоптатах нижньої щелепи щурів, що виділяється остеобластами і бере участь у мінералізації остеоїдів.

Наші попередні дослідження та результати численних досліджень різних вчених показали високу ефективність застосування різних остеотропних матеріалів на основі гідроксиапатиту для заміщення кісткових дефектів нижньої щелепи [11, 15]. У цьому дослідженні автори вперше показали більш виражену активацію репаративного остеогенезу в нижній щелепі за умов одночасного заповнення кісткового дефекту гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом (кістковий трансплантат "Biomim GT") та ін'єкції оточуючих кістковий дефект м'яких тканин тималіном.

Тималін - поліпептидний комплекс, виділений з тимуса, який регулює кількість і співвідношення Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій, стимулює реакції клітинного імунітету, посилює фагоцитоз, стимулює процеси регенерації та кровотворення, покращує процеси клітинного метаболізму [120]. Наше дослідження показало, що введення тималіну в м'які тканини, що оточують кістковий дефект, який був заповнений гідроксиапатитвмісним

остеотропним матеріалом (кістковий трансплантат "Biomim GT"), призводило до швидкого очищення порожнини кісткового дефекту від некротичних тканин і фрагментів гематоми; зменшенню кількості нейтрофільних лейкоцитів, збільшенню кількості моноцитів, макрофагів, лімфоцитів, фібробластичних клітин, остеобластів та остеокластів з дотриманням їх правильного співвідношення в порожнині кісткового дефекту та в оточуючих тканинах; стимуляції проліферативного потенціалу фібробластичних клітин, остеобластів та остеокластів; активації гемопоетичних процесів у пластинчастій кістковій тканині з боку регенованої ділянки; активації процесів мінералізації кісткової тканини.

Кістка розглядається як остеоімунна система, в основі якої лежить кооперативна дія кісткових та імунних клітин [20]. Роль імунних клітин у процесах репаративного остеогенезу вивчається багатьма вченими. Дисфункції імунної системи призводять до порушень різних механізмів репаративного остеогенезу [29,30].

Одним з важливих біохімічних маркерів диференціювання остеобластів і відображення процесів формування кісткової тканини є визначення активності ферменту лужної та кислої фосфатази у біоптатах нижньої щелепи щурів, що виділяється остеобластами і бере участь у мінералізації остеодів.

Індекс співвідношення лужної та кислої фосфатази у кісткових біоптатах показав зростання цього параметра в щурів в усіх експериментальних групах дослідження з 3 до 28 доби, однак отримані дані були нижче індексу мінералізації у інтактних тварин. Максимальне зростання значень індексу лужної та кислої фосфатази визначали у щурів IV експериментальної групи.

Мінералізація кісткової тканини нижньої щелепи найбільш зростала на 14 та більш значуще на 28 добу у щурів IV групи, яким заповнювали дірчастий дефект кістково замінним матеріалом та проводили ін'єкції тималіну в навколишні м'які тканини.

Морфологічне дослідження показало, що введення тималіну в м'які тканини, що оточують кістковий дефект, який був заповнений гідроксиапатитвмісним остеотропним матеріалом, призводило до швидкого очищення порожнини кісткового дефекту від некротичних тканин і фрагментів гематоми; зменшенню кількості нейтрофільних лейкоцитів, збільшенню кількості моноцитів, макрофагів, лімфоцитів, фібробластичних клітин, остеобластів та остеокластів з дотриманням їх правильного співвідношення в порожнині кісткового дефекту та в оточуючих тканинах; стимуляції проліферативного потенціалу фібробластичних клітин, остеобластів та остеокластів; активації гемопоетичних процесів у пластинчастій кістковій тканині з боку регенованої ділянки; активації процесів мінералізації кісткової тканини.

ВИСНОВКИ

У дисертації представлено теоретичне та практичне узагальнення та обґрунтування вирішення актуальної задачі сучасної щелепно-лицевої хірургії – процеси репаративного остеогенезу в післяопераційних дефектах нижньої щелепи, які заповнені різними способами в експерименті.

1. Розроблено та досліджено в експерименті методи впливу на репаративний остеогенез дефектів нижньої щелепи з використанням гідроксиапатитвмісного остеотропного матеріалу «Біомін ГТ» та ін'єкціями розчину тималіну в оточуючі м'які тканини.

2. У результаті проведеного біохімічного дослідження ротової рідини щурів було визначено, що вміст sIgA I – IV груп був нижчим порівняно з контрольною групою в терміни спостереження 3, 7, 14 діб. При цьому показник в IV групі був вище порівняно з I, II, III групами. На 28 добу вміст sIgA між I – IV групами складала 52%. В IV групі на 28 добу порівняно з контрольною групою показник був вищим (відповідно 22,60 [19,50; 28,85] мг/л – контрольна група, 24,65[19,78; 29,08] мг/л – IV група), що є свідченням позитивного впливу проведеного комплексного лікування з застосуванням тималіну та остеогенного гідроксиапатитвмісного матеріалу «Біомін ГТ».

3. При аналізі отриманих результатів показано, що активність лужної фосфатази в ротовій рідині щурів контрольної групи складала - 12,90 [11,95; 15,58] ОД/л. Значне зниження активності лужної фосфатази, а саме на 43,12% спостерігалось в ротовій рідині щурів IV групи та цей показник дорівнював активності лужної фосфатази в щурів контрольної групи. Підвищена активність лужної фосфатази в ротовій рідині зумовлена значним її вивільненням із пошкоджених клітин м'яких та твердих тканин щелепи.

Активність кислої фосфатази в ротовій рідині інтактних тварин складала 7,10 [5,69;8,725] ОД/л. Показник в IV групі 8,40 [7,15; 9,62] ОД/л;

статистично значуще відрізнявся від активності кислої фосфатази в слині щурів I-III груп експериментальних тварин, що свідчить про позитивну оцінку проведеної терапії.

Значна роль в регуляції мінерального обміну притаманна кислій та лужній фосфатазі ротової рідини. Саме на 14 добу дослідження відбувається збільшення активності лужної фосфатази, а на 28-му добу – кислої фосфатази в ротовій рідині щурів IV групи. Це свідчить про позитивний ефект використання – для заміщення кісткової тканини остеогенним матеріалом «Біомін ГТ» та ін'єкціями тималіну в оточуючі м'які тканини.

4. Визначення остеокальцину (біохімічного маркеру остеогенезу) в крові щурів на 3-тю добу дослідження після моделювання дірчастого дефекту кісткової тканини нижньої щелепи в усіх експериментальних групах та на 7-му добу в щурів I та II групи визначено дисбаланс процесів, що забезпечують ремоделювання кісткової тканини, а саме превалювання процесів остеорезорбції над процесами остеосинтезу, про що свідчить знижений вміст у крові остеокальцину (відповідно 14,25 [13,33;15,88] нг/мл – I група, 14,85 [13,40;16,33] – II група, 17,95 [15,80; 19,85] нг/мл – контрольна група). Це також є свідченням про зниження органічної складової кісткової тканини, що знайшло підтвердження в зменшенні вмісту в крові остеокальцину – біохімічного маркеру остеогенезу.

Тільки на 14-ту та 28-му добу в крові щурів IV експериментальної групи спостерігається позитивна динаміка процесів репаративного остеогенезу, що свідчить про значне підвищення вмісту в сироватці крові остеокальцину (18,65 [17,48;19,98] нг/мл – 14-та доба та 17,95 [15,80; 19,85] нг/мл – 28-ма доба).

5. Результати дослідження активності ферменту лужної та кислої фосфатази в біоптатах нижньої щелепи щурів, що виділяється остеобластами та бере участь у мінералізації остеоїдів.

Визначення індексу співвідношення лужної та кислої фосфатази в кісткових біоптатах показав зростання цього параметра в щурів у всіх експериментальних групах дослідження з 3-тньої доби до 28-мої, однак отримані дані були нижче індексу мінералізації в інтактних тварин. Максимальне зростання значень індексу лужної та кислої фосфатази визначали в щурів IV експериментальної групи (відповідно 12,85[11,58; 14,13] – ЛФ 28-ма доба, 12,95 [11,50; 14,73] – контрольна група ЛФ; 0,95[0,52; 0,35] – КФ 28-ма доба, 0,71 [0,48; 0,84] МО/Г – контрольна група КФ).

6. Морфологічне дослідження показало, що в тварин IV групи, призводило до швидшого очищення порожнини кісткового дефекту від некротичних тканин і фрагментів гематоми; зменшенню кількості нейтрофільних лейкоцитів, збільшенню кількості моноцитів, макрофагів, лімфоцитів, фібробластичних клітин, остеобластів та остеокластів з дотриманням їх правильного співвідношення в порожнині кісткового дефекту та в оточуючих тканинах; змінює умови проліферативного потенціалу фібробластичних клітин, остеобластів і остеокластів; активації гемопоетичних процесів у пластинчастій кістковій тканині з боку регенованої ділянки; активації процесів мінералізації кісткової тканини.

7. Морфометричне дослідження свідчить про більш прискоренні процеси репаративного остеогенезу та кровотворення в групі 3 , особливо, в групі 4 порівняно з групами 1 і 2.

У кістковій тканині, що межувала з дефектом, заповненим регенератом, коефіцієнт яскравості в групах 3 і 4 набув достовірно нижчого значення порівняно з групами 1 і 2 (відповідно 0.53 ± 0.012 – 3 група і 0.53 ± 0.008 – 4 група ; 0.59 ± 0.007 – 1 група і 0.59 ± 0.008 – 2 група;). На 28-му добу експерименту, порівняно з 14-ю добою, коефіцієнт яскравості зменшився в усіх групах.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Chim H, Salgado CJ, Mardini S, Chen HC. Reconstruction of mandibular defects. *Semin Plast Surg.* 2010 May;24(2):188-97. doi: 10.1055/s-0030-1255336.
2. Breeze J, Powers DB. Current opinion in the assessment and management of ballistic trauma to the craniomaxillofacial region. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2020 Aug;28(4):251-7. doi: 10.1097/MOO.0000000000000634.
3. Da Rocha SS, Da Hora Sales PH, Carvalho PHR, Maia RN, Gondim RF, De Menezes Junior JMS, et al. Mandibular traumas by gunshot. A systematic review with meta-analysis and algorithm of treatment. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2021;59(3):e99-108. doi: 10.1016/j.bjoms.2020.08.019/
4. Rehman U, Shemie M, Sarwar MS, Adebayo O, Brennan PA. (2023). The reconstruction of mandible defects in war injuries: systematic review and meta-analysis [Internet]. *Craniomaxillofacial Trauma & Reconstruction.* 2023. Available form: <https://doi.org/10.1177/194338752311989>.
5. Хоменко ІП, Король СО, Халік СВ, Шаповалов ВЮ, Єнін РВ, Герасименко ОС, та ін. Клінічно-епідеміологічний аналіз структури бойової хірургічної травми при проведенні анти терористичної операції /операції об'єднаних сил на сході України. *Укр. журн. військ. медицини.* 2021;2(2):5-13.
6. Fernandes RP, Yetzer JG. Reconstruction of acquired oromandibular defects. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2013 May;25(2):241-9. doi: 10.1016/j.coms.2013.02.003.
7. Buvinic S, Balanta-Melo J, Kupczik K, Vásquez W, Beato C, Toro-Ibacache V. Muscle-bone crosstalk in the masticatory system: from biomechanical to molecular interactions. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021 Mar 1;11:606947. doi: 10.3389/fendo.2020.606947.

8. Akintoye SO. The distinctive jaw and alveolar bone regeneration. *Oral Dis.* 2018 Mar;24(1-2):49-51. doi: 10.1111/odi.12761.
9. Willenbacher M, Al-Nawas B, Berres M, Kämmerer PW, Schiegnitz E. The effects of alveolar ridge preservation: A meta-analysis. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2016 Dec;18(6):1248-68. doi: 10.1111/cid.12364.
10. Bernal-Sánchez KK, Lara-Carrillo E, Velázquez-Enriquez U, Casanova-Rosado JF, Casanova-Rosado AJ, Morales-Valenzuela AA, et al. Clinical and socio-demographic factors associated with dental extractions in a clinical sample. *Braz Dent J.* 2023 Nov-Dec;34(6):121-9. doi: 10.1590/0103-6440202305355.
11. Broers DLM, Dubois L, De Lange J, Su N, De Jongh A. Reasons for tooth removal in adults: A systematic review. *Int Dent J.* 2022 Feb;72(1):52-7. doi: 10.1016/j.identj.2021.01.011.
12. Jambhekar S, Kernen F, Bidra AS. Clinical and histologic outcomes of socket grafting after flapless tooth extraction: a systematic review of randomized controlled clinical trials. *J Prosthet Dent.* 2015 May;113(5):371-82. doi: 10.1016/j.prosdent.2014.12.009.
13. Kalsi AS, Kalsi JS, Bassi S. Alveolar ridge preservation: why, when and how. *Br Dent J.* 2019 Aug;227(4):264-74. doi: 10.1038/s41415-019-0647-2. **53**
14. Couso-Queiruga E, Stuhr S, Tattan M, Chambrone L, Avila-Ortiz G. Post-extraction dimensional changes: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2021 Jan;48(1):126-44. doi: 10.1111/jcpe.13390.
15. Bassir SH, Alhareky M, Wangsrimongkol B, Jia Y, Karimbux N. Systematic Review and meta-analysis of hard tissue outcomes of alveolar ridge preservation. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2018 Sep/Oct;33(5):979-94. doi: 10.11607/jomi.6399.
16. Avila-Ortiz G, Chambrone L, Vignoletti F. Effect of alveolar ridge preservation interventions following tooth extraction: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2019 Jun;46 Suppl 21:195-223. doi: 10.1111/jcpe.13057.

17. Ito S, Kasahara N, Kitamura K, Matsunaga S, Mizoguchi T, Htun MW, et al. Pathological differences in the bone healing processes between tooth extraction socket and femoral fracture. *Bone Rep.* 2022 Mar 24;16:101522. doi: 10.1016/j.bonr.2022.101522.
18. Cho MI, Garant PR. Development and general structure of the periodontium. *Periodontol 2000.* 2000 Oct;24:9-27. doi: 10.1034/j.1600-0757.2000.2240102.x. **4**
19. Omi M, Mishina Y. Roles of osteoclasts in alveolar bone remodeling. *Genesis.* 2022 Sep;60(8-9):e23490. doi: 10.1002/dvg.23490.
20. Araújo MG, Silva CO, Misawa M, Sukekava F. Alveolar socket healing: what can we learn? *Periodontol 2000.* 2015 Jun;68(1):122-34. doi: 10.1111/prd.12082.
21. Hämmerle CH, Araújo MG, Simion M; Osteology Consensus Group 2011. Evidence-based knowledge on the biology and treatment of extraction sockets. *Clin Oral Implants Res.* 2012 Feb;23 Suppl 5:80-2. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02370.x. Erratum in: *Clin Oral Implants Res.* 2012 May;23(5):641.
22. Yue Yi EK, Siew Ying AL, Mohan M, Menon RK. Prevalence of postoperative infection after tooth extraction: A retrospective study. *Int J Dent.* 2021 Jun 8;2021:6664311. doi: 10.1155/2021/6664311.
23. Bortoluzzi MC, Manfro R, De Déa BE, Dutra TC. Incidence of dry socket, alveolar infection, and postoperative pain following the extraction of erupted teeth. *J Contemp Dent Pract.* 20 Jan 1;11(1):E033-40.
24. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res.* 2010 Mar;89(3):219-29. doi: 10.1177/0022034509359125.
25. Rodrigues MT, Cardoso CL, Carvalho PS, Cestari TM, Feres M, Garlet GP, et al. Experimental alveolitis in rats: microbiological, acute phase response and histometric characterization of delayed alveolar healing. *J Appl Oral Sci.* 2011 May-Jun;19(3):260-8. doi: 10.1590/s1678-77572011000300015.
26. Avila-Ortiz G, Gubler M, Romero-Bustillos M, Nicholas CL, Zimmerman MB, Barwacz CA. Efficacy of alveolar ridge preservation: A randomized controlled trial. *J Dent Res.* 2020 Apr;99(4):402-9. doi: 10.1177/0022034520905660.

27. Yan ZQ, Wang XK, Zhou Y, Wang ZG, Wang ZX, Jin L, et al. H-type blood vessels participate in alveolar bone remodeling during murine tooth extraction healing. *Oral Dis.* 2020 Jul;26(5):998-1009. doi: 10.1111/odi.13321.
28. Peng Y, Wu S, Li Y, Crane JL. Type H blood vessels in bone modeling and remodeling. *Theranostics.* 2020 Jan 1;10(1):426-436. doi: 10.7150/thno.34126.
29. Farina R, Trombelli L. Wound healing of extraction sockets. *Endodontic Topics.* 2011;25(1):16-43.
30. Trombelli L, Farina R, Marzola A, Bozzi L, Liljenberg B, Lindhe J. Modeling and remodeling of human extraction sockets. *J Clin Periodontol.* 2008 Jul;35(7):630-9. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01246.x.
31. Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, Karring T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2003 Aug;23(4):313-23.
32. Jafer MA, Salem RM, Hakami FB, Ageeli RE, Alhazmi TA, Bhandi S, Patil S. Techniques for Extraction Socket Regeneration for Alveolar Ridge Preservation. *J Contemp Dent Pract.* 2022 Feb 1;23(2):245-250. PMID: 35748457.
33. De Sousa Gomes P, Daugela P, Poskevicius L, Mariano L, Fernandes MH. Molecular and cellular aspects of socket healing in the absence and presence of graft materials and autologous platelet concentrates: a focused review. *J Oral Maxillofac Res.* 2019 Sep 5;10(3):e2. doi: 10.5037/jomr.2019.10302.
34. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen.* 2008 Sep-Oct;16(5):585-601. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x.
35. Covani U, Giammarinaro E, Marconcini S. Alveolar socket remodeling: The tug-of-war model. *Med Hypotheses.* 2020 Sep;142:109746. doi: 10.1016/j.mehy.2020.109746.

36. Sculean A, Stavropoulos A, Bosshardt DD. Self-regenerative capacity of intra-oral bone defects. *J Clin Periodontol*. 2019 Jun;46 Suppl 21:70-81. doi: 10.1111/jcpe.13075.
37. Del Fabbro M, Bucchi C, Lolato A, Corbella S, Testori T, Taschieri S. Healing of postextraction sockets preserved with autologous platelet concentrates. A systematic review and meta-analysis. *J Oral Maxillofac Surg*. 2017 Aug;75(8):1601-15. doi: 10.1016/j.joms.2017.02.009.
38. Kalsi AS, Kalsi JS, Bassi S. Alveolar ridge preservation: why, when and how. *Br Dent J*. 2019 Aug;227(4):264-74. doi: 10.1038/s41415-019-0647-2.
39. Saund D, Dietrich T. Minimally-invasive tooth extraction: doorknobs and strings revisited! *Dent Update*. 2013 May;40(4):325-6, 328-30. doi: 10.12968/denu.2013.40.4.325.
40. Kubilius M, Kubilius R, Gleiznys A. The preservation of alveolar bone ridge during tooth extraction. *Stomatologija*. 2012;14(1):3-11.
41. Majzoub J, Ravida A, Starch-Jensen T, Tattan M, Suárez-López Del Amo F. The influence of different grafting materials on alveolar ridge preservation: a systematic review. *J Oral Maxillofac Res*. 2019 Sep 5;10(3):e6. doi: 10.5037/jomr.2019.10306.
42. Kim JJ, Ben Amara H, Chung I, Koo KT. Compromised extraction sockets: a new classification and prevalence involving both soft and hard tissue loss. *J Periodontal Implant Sci*. 2021 Apr;51(2):100-13. doi: 10.5051/jpis.2005120256. **35**
43. Tan WL, Wong TL, Wong MC, Lang NP. A systematic review of post-extractional alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clin Oral Implants Res*. 2012 Feb;23 Suppl 5:1-21. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02375.x.
44. Agarwal G, Thomas R, Mehta D. Postextraction maintenance of the alveolar ridge: rationale and review. *Compend Contin Educ Dent*. 2012 May;33(5):320-4, 326; quiz 327, 336.

45. Mardas N, Macbeth N, Donos N, Jung RE, Zuercher AN. Is alveolar ridge preservation an overtreatment? *Periodontol 2000*. 2023 Oct;93(1):289-308. doi: 10.1111/prd.12508.
46. Panesar K, Susarla SM. Mandibular fractures: diagnosis and management. *Semin Plast Surg*. 2021 Oct 11;35(4):238-49. doi: 10.1055/s-0041-1735818.
47. Yu X, Tang X, Gohil SV, Laurencin CT. Biomaterials for Bone Regenerative Engineering. *Adv Healthc Mater*. 2015 Jun 24;4(9):1268-85. doi: 10.1002/adhm.201400760.
48. Ma J, Ma L, Wang Z, Zhu X, Wang W. The use of 3D-printed titanium mesh tray in treating complex comminuted mandibular fractures: A case report. *Medicine (Baltimore)*. 2017 Jul;96(27):e7250. doi: 10.1097/MD.00000000000007250.
49. Li J, Yang H, Han L. Open versus closed treatment for unilateral mandibular extra-capsular condylar fractures: A meta-analysis. *J Craniomaxillofac Surg*. 2019 Jul;47(7):1110-9. doi: 10.1016/j.jcms.2019.03.021.
50. Li Z, Li ZB. Clinical characteristics and treatment of multiple site comminuted mandible fractures. *J Craniomaxillofac Surg*. 2011 Jun;39(4):296-9. doi: 10.1016/j.jcms.2010.04.009.
51. Muddassar M, Arshad R, Rabbani S, Qureshi IS, Khattak IK, Rana Z. Management of gunshot injuries of mandible with open reduction and internal fixation versus closed reduction and maxillo-mandibular fixation. *Cureus*. 2020 Apr 25;12(4):e7830. doi: 10.7759/cureus.7830.
52. Chrcanovic BR. Open versus closed reduction: comminuted mandibular fractures. *Oral Maxillofac Surg*. 2013 Jun;17(2):95-104. doi: 10.1007/s10006-012-0349-2.
53. Siddiqui SU, Iqbal N, Baig MH, Mehdi H, Mahmood Haider S. Efficacy of open reduction and internal fixation in achieving bony union of comminuted mandibular fractures caused by civilian gunshot injuries. *Surgeon*. 2020 Aug;18(4):214-218. doi: 10.

54. Sri Surya TP, Jaggannagari S, Danam RP, Colvenkar S, Alwala AM. Management of comminuted fracture of mandible using titanium mesh. *Cureus*. 2023 Mar 5;15(3):e35799. doi: 10.7759/cureus.35799.
55. Scolozzi P, Richter M. Treatment of severe mandibular fractures using AO reconstruction plates. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003 Apr;61(4):458-61. doi: 10.1053/joms.2003.50087.
56. Schug T, Rodemer H, Neupert W, Dumbach J. Treatment of complex mandibular fractures using titanium mesh. *J Craniomaxillofac Surg*. 2000 Aug;28(4):235-7. doi: 10.1054/jcms.2000.0146.
57. Kaur N, Kaur T, Kaur J, Kaur Y, Kapila S, Sandhu A. Efficacy of titanium mesh osteosynthesis in maxillofacial fractures. *J Maxillofac Oral Surg*. 2018 Dec;17(4):417-24. doi: 10.1007/s12663-017-1043-6.
58. Dai J, Shen G, Yuan H, Zhang W, Shen S, Shi J. Titanium mesh shaping and fixation for the treatment of comminuted mandibular fractures. *J Oral Maxillofac Surg*. 2016 Feb;74(2):337. doi: 10.1016/j.joms.2015.10.003.
59. Kakarala K, Shnyder Y, Tsue TT, Girod DA. Mandibular reconstruction. *Oral Oncol*. 2018 Feb;77:111-7. doi: 10.1016/j.oraloncology.2017.12.020.
60. Дуда КМ, Кліщ ІМ. Остеоіндуктивні препарати для заміщення кісткових дефектів у стоматології. *Здобутки клін. і експерим. медицини*. 2019;(2):7-11.
61. Hof M, Tepper G, Semo B, Arnhart C, Watzek G, Pommer B. Patients' perspectives on dental implant and bone graft surgery: questionnaire-based interview survey. *Clin Oral Implants Res*. 2014 Jan;25(1):42-5. doi: 10.1111/clr.12061.
62. Scheerlinck LM, Muradin MS, Van der Bilt A, Meijer GJ, Koole R, Van Cann EM. Donor site complications in bone grafting: comparison of iliac crest, calvarial, and mandibular ramus bone. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2013 Jan-Feb;28(1):222-7. doi: 10.11607/jomi.2603.
63. Cordaro L, Torsello F, Miuccio MT, Di Torresanto VM, Eliopoulos D. Mandibular bone harvesting for alveolar reconstruction and implant placement:

subjective and objective cross-sectional evaluation of donor and recipient site up to 4 years. *Clin Oral Implants Res.* 2011 Nov;22(11):1320-6. doi: 10.1111/j.1600-0501.2010.02115.x.

64. Nkenke E, Neukam FW. Autogenous bone harvesting and grafting in advanced jaw resorption: morbidity, resorption and implant survival. *Eur J Oral Implantol.* 2014 Summer;7 Suppl 2:S203-17.

65. Wang M, Li Y, Su Z, Mo A. Clinical and radiographic outcomes of customized allogeneic bone block versus autogenous bone block for ridge augmentation: 6 Month results of a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2023 Jan;50(1):22-35. doi: 10.1111/jcpe.13714.

66. Starch-Jensen T, Deluiz D, Deb S, Bruun NH, Tinoco EMB. Harvesting of autogenous bone graft from the ascending mandibular ramus compared with the chin region: a systematic review and meta-analysis focusing on complications and donor site morbidity. *J Oral Maxillofac Res.* 2020 Nov 30;11(3):e1. doi: 10.5037/jomr.2020.11301.

67. Heimes D, Pabst A, Becker P, Hartmann A, Kloss F, Tunkel J, et al. Comparison of morbidity-related parameters between autologous and allogeneic bone grafts for alveolar ridge augmentation from patients' perspective-A questionnaire-based cohort study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2023 Jul 12. doi: 10.1111/cid.13242.

68. Li J, Zhao Y, Chen S, Wang S, Zhong W, Zhang Q. Research hotspots and trends of bone xenograft in clinical procedures: A bibliometric and visual analysis of the past decade. *Bioengineering (Basel).* 2023 Aug 4;10(8):929. doi: 10.3390/bioengineering10080929.

69. Kämmerer PW, Tunkel J, Götz W, Würdinger R, Kloss F, Pabst A. The allogeneic shell technique for alveolar ridge augmentation: a multicenter case series and experiences of more than 300 cases. *Int J Implant Dent.* 2022 Nov 1;8(1):48. doi: 10.1186/s40729-022-00446-y.

70. Tunkel J, Hoffmann F, Schmelcher Y, Kloss-Brandstätter A, Kämmerer PW. Allogeneic versus autogenous shell technique augmentation procedures: a prospective-observational clinical trial comparing surgical time and complication rates. *Int J Implant Dent*. 2023 Dec 20;9(1):52. doi: 10.1186/s40729-023-00505-y.
71. Benic GI, Hämmerle CH. Horizontal bone augmentation by means of guided bone regeneration. *Periodontol 2000*. 2014 Oct;66(1):13-40. doi: 10.1111/prd.12039.
72. Fu JH, Wang HL. Horizontal bone augmentation: the decision tree. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2011 Jul-Aug;31(4):429-36.
73. Chaushu L, Chaushu G, Kolerman R, Vered M, Naishlos S, Nissan J. Anterior atrophic mandible restoration using cancellous bone block allograft. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2019 Oct;21(5):903-9. doi: 10.1111/cid.12744.
74. Khoury F, Hanser T. Mandibular bone block harvesting from the retromolar region: a 10-year prospective clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2015 May-Jun;30(3):688-97. doi: 10.11607/jomi.4117.
75. Würdinger R, Donkiewicz P. Allogeneic cortical struts and bone granules for challenging alveolar reconstructions: An innovative approach toward an established technique. *J Esthet Restor Dent*. 2020 Dec;32(8):747-56. doi: 10.1111/jerd.12639. **7**
76. Iglhaut G, Schwarz F, Gründel M, Mihatovic I, Becker J, Schliephake H. Shell technique using a rigid resorbable barrier system for localized alveolar ridge augmentation. *Clin Oral Implants Res*. 2014 Feb;25(2):e149-54. doi: 10.1111/clr.12078.
77. Pabst A, Ackermann M, Thiem D, Kämmerer P. Influence of different rehydration protocols on biomechanical properties of allogeneic cortical bone plates: A combined in-vitro/in-vivo study. *J Invest Surg*. 2021 Oct;34(10):1158-64. doi: 10.1080/08941939.2020.1767735.
78. Esposito M, Grusovin MG, Felice P, Karatzopoulos G, Worthington HV, Coulthard P. The efficacy of horizontal and vertical bone augmentation procedures

- for dental implants - a Cochrane systematic review. *Eur J Oral Implantol*. 2009 Autumn;2(3):167-84.
79. Urban IA, Montero E, Monje A, Sanz-Sánchez I. Effectiveness of vertical ridge augmentation interventions: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2019 Jun;46 Suppl 21:319-39. doi: 10.1111/jcpe.13061.
80. Tay JRH, Ng E, Lu XJ, Lai WMC. Healing complications and their detrimental effects on bone gain in vertical-guided bone regeneration: A systematic review and meta-analysis. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2022 Feb;24(1):43-71. doi: 10.1111/cid.13057.
81. Osman AH, Atef M. Computer-guided chin harvest: A novel approach for autogenous block harvest from the mandibular symphysis. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2018 Aug;20(4):501-6. doi: 10.1111/cid.12610.
82. Misch CM. Use of a surgical template for autologous bone grafting of alveolar defects. *J Prosthodont*. 1999 Mar;8(1):47-52. doi: 10.1111/j.1532-849x.1999.tb00008.x.
83. Figliuzzi M, Mangano FG, Fortunato L, De Fazio R, Macchi A, Iezzi G, et al. Vertical ridge augmentation of the atrophic posterior mandible with custom-made, computer-aided design/computer-aided manufacturing porous hydroxyapatite scaffolds. *J Craniofac Surg*. 2013 May;24(3):856-9. doi: 10.1097/SCS.0b013e31827ca3a7.
84. Greenberg AM, Schmelzeisen R, eds.. *Craniomaxillofacial reconstructive and corrective bone surgery*. 2nd ed. Springer; 2019. 2042 p.
85. Dec P, Modrzejewski A, Pawlik A. Existing and novel biomaterials for bone tissue engineering. *Int J Mol Sci*. 2022 Dec 28;24(1):529. doi: 10.3390/ijms24010529.
86. Moussa N, Fan Y, Dym H. Maxillofacial bone grafting materials: 2021 Update. *Dent Clin North Am*. 2021 Jan;65(1):167-95. doi: 10.1016/j.cden.2020.09.012.

87. Melville JC, Tran HQ, Bhatti AK, Manon V, Young S, Wong ME. Is reconstruction of large mandibular defects using bioengineering materials effective? *J Oral Maxillofac Surg.* 2020 Apr;78(4):661.e1-e29. doi: 10.1016/j.joms.2019.11.024.
88. Kumar BP, Venkatesh V, Kumar KA, Yadav BY, Mohan SR. Mandibular reconstruction: overview. *J Maxillofac Oral Surg.* 2016 Dec;15(4):425-41. doi: 10.1007/s12663-015-0766-5.
89. Jazayeri HE, Tahriri M, Razavi M, Khoshroo K, Fahimipour F, Dashtimoghadam E, et al. A current overview of materials and strategies for potential use in maxillofacial tissue regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017 Jan 1;70(Pt 1):913-29. doi: 10.1016/j.msec.2016.08.055.
90. Павленко АВ, Горбань СА, Илык РР. Остеопластические материалы в стоматологии: прошлое, настоящее, будущее. *Соврем. стоматология.* 2008;(4):103-9.
91. Мисула ІР, Скочило ОВ. Кістково-пластичні матеріали для заміщення дефектів щелеп: від історії до сьогодення. *Шпит. хірургія.* 2013;(3):96-101. http://nbuv.gov.ua/UJRN/shpkhir_2013_3_26.
92. Jazayeri HE, Tahriri M, Razavi M, Khoshroo K, Fahimipour F, Dashtimoghadam E, et al. A current overview of materials and strategies for potential use in maxillofacial tissue regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017 Jan 1;70(Pt 1):913-29. doi: 10.1016/j.msec.2016.08.055.
93. Martin V, Bettencourt A. Bone regeneration: Biomaterials as local delivery systems with improved osteoinductive properties. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2018 Jan 1;82:363-71. doi: 10.1016/j.msec.2017.04.038.
94. Santos MI, Reis RL. Vascularization in bone tissue engineering: physiology, current strategies, major hurdles and future challenges. *Macromol Biosci.* 2010 Jan 11;10(1):12-27. doi: 10.1002/mabi.200900107.

95. Janicki P, Schmidmaier G. What should be the characteristics of the ideal bone graft substitute? Combining scaffolds with growth factors and/or stem cells. *Injury*. 2011 Sep;42 Suppl 2:S77-81. doi: 10.1016/j.injury.2011.06.014.
96. Azi ML, Aprato A, Santi I, Kfuri M Jr, Masse A, Joeris A. Autologous bone graft in the treatment of post-traumatic bone defects: a systematic review and meta-analysis. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016 Nov 9;17(1):465. doi: 10.1186/s12891-016-1312-4.
97. Petrovic V, Zivkovic P, Petrovic D, Stefanovic V. Craniofacial bone tissue engineering. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012 Sep;114(3):e1-9. doi: 10.1016/j.oooo.2012.02.030.
98. Aro HT, Aho AJ. Clinical use of bone allografts. *Ann Med*. 1993 Aug;25(4):403-12. doi: 10.3109/07853899309147303.
99. Wei L, Miron RJ, Shi B, Zhang Y. Osteoinductive and osteopromotive variability among different demineralized bone allografts. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2015 Jun;17(3):533-42. doi: 10.1111/cid.12118.
100. Fretwurst T, Gad LM, Steinberg T, Schmal H, Zeiser R, Amler AK, et al. Detection of major histocompatibility complex molecules in processed allogeneic bone blocks for use in alveolar ridge reconstruction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2018 Mar 20:S2212-4403(18)30054-3. doi: 10.1016/j.oooo.2018.01.018.
101. Ghanaati S, Barbeck M, Booms P, Lorenz J, Kirkpatrick CJ, Sader RA. Potential lack of "standardized" processing techniques for production of allogeneic and xenogeneic bone blocks for application in humans. *Acta Biomater*. 2014 Aug;10(8):3557-62. doi: 10.1016/j.actbio.2014.04.017.
102. Hinsenkamp M, Muylle L, Eastlund T, Fehily D, Noël L, Strong DM. Adverse reactions and events related to musculoskeletal allografts: reviewed by the World Health Organisation Project NOTIFY. *Int Orthop*. 2012 Mar;36(3):633-41. doi: 10.1007/s00264-011-1391-7.

103. Lorenz J, Kubesch A, Al-Maawi S, Schwarz F, Sader RA, Schlee M, et al. Allogeneic bone block for challenging augmentation-a clinical, histological, and histomorphometrical investigation of tissue reaction and new bone formation. *Clin Oral Investig*. 2018 Dec;22(9):3159-69. doi: 10.1007/s00784-018-2407-0.
104. Windhager R, Hobusch GM, Matzner M. Allogeneic transplants for biological reconstruction of bone defects. *Orthopade*. 2017 Aug;46(8):656-64. German. doi: 10.1007/s00132-017-3452-0.
105. Tevlin R, McArdle A, Atashroo D, Walmsley GG, Senarath-Yapa K, Zielins ER, et al. Biomaterials for craniofacial bone engineering. *J Dent Res*. 2014 Dec;93(12):1187-95. doi: 10.1177/0022034514547271.
106. Liang F, Leland H, Jedrzejewski B, Auslander A, Maniskas S, Swanson J, et al. Alternatives to autologous bone graft in alveolar cleft reconstruction: the state of alveolar tissue engineering. *J Craniofac Surg*. 2018 May;29(3):584-93. doi: 10.1097/SCS.0000000000004300.
107. Pang KM, Um IW, Kim YK, Woo JM, Kim SM, Lee JH. Autogenous demineralized dentin matrix from extracted tooth for the augmentation of alveolar bone defect: a prospective randomized clinical trial in comparison with anorganic bovine bone. *Clin Oral Implants Res*. 2017 Jul;28(7):809-15. doi: 10.1111/clr.12885.
108. Kučera J, Lofaj F, Nagyová-Krchova Z, Šurín Hudáková N, Vojtko M, Březina V. Stimulation of osteogenic activity of autologous teeth hard tissues as bone augmentation material. *Biology (Basel)*. 2024 Jan 11;13(1):40. doi: 10.3390/biology13010040.
109. Taheri NS, Blicblau AS, Singh M. Comparative study of two materials for dynamic hip screw during fall and gait loading: titanium alloy and stainless steel. *J Orthop Sci*. 2011 Nov;16(6):805-13. doi: 10.1007/s00776-011-0145-0.
110. Lujan TJ, Henderson CE, Madey SM, Fitzpatrick DC, Marsh JL, Bottlang M. Locked plating of distal femur fractures leads to inconsistent and asymmetric

- callus formation. *J Orthop Trauma*. 2010 Mar;24(3):156-62. doi: 10.1097/BOT.0b013e3181be6720.
111. Barber CC, Burnham M, Ojameruaye O, McKee MD. A systematic review of the use of titanium versus stainless steel implants for fracture fixation. *OTA Int*. 2021 Aug 18;4(3):e138. doi: 10.1097/OI9.0000000000000138.
112. Lujan TJ, Henderson CE, Madey SM, Fitzpatrick DC, Marsh JL, Bottlang M. Locked plating of distal femur fractures leads to inconsistent and asymmetric callus formation. *J Orthop Trauma*. 2010 Mar;24(3):156-62. doi: 10.1097/BOT.0b013e3181be6720.
113. Nazzal A, Lozano-Calderón S, Jupiter JB, Rosenzweig JS, Randolph MA, Lee SG. A histologic analysis of the effects of stainless steel and titanium implants adjacent to tendons: an experimental rabbit study. *J Hand Surg Am*. 2006 Sep;31(7):1123-30. doi: 10.1016/j.jhsa.2006.03.001.
114. Vujović S, Desnica J, Stanišić D, Ognjanović I, Stevanovic M, Rosic G. Applications of biodegradable magnesium-based materials in reconstructive oral and maxillofacial surgery: A review. *Molecules*. 2022 Aug 28;27(17):5529. doi: 10.3390/molecules27175529.
115. Herber V, Okutan B, Antonoglou G, Sommer N, Payer M. Bioresorbable magnesium-based alloys as novel biomaterials in oral bone regeneration: general review and clinical perspectives. *J Clin Med*. 2021 Apr 23;10(9):1842. doi: 10.3390/jcm10091842.
116. Van Oirschot BAJA, Geven EJW, Mikos AG, Van den Beucken JJJP, Jansen JA. A mini-pig mandibular defect model for evaluation of craniomaxillofacial bone regeneration. *Tissue Eng Part C Methods*. 2022 May;28(5):193-201. doi: 10.1089/ten.TEC.2022.0012.
117. Gallego L, Junquera L, García E, García V, Alvarez-Viejo M, Costilla S, et al. Repair of rat mandibular bone defects by alveolar osteoblasts in a novel plasma-derived albumin scaffold. *Tissue Eng Part A*. 2010 Apr;16(4):1179-87. doi: 10.1089/ten.TEA.2009.0517.

118. Schlund M, Depeyre A, Kotagudda Ranganath S, Marchandise P, Ferri J, Chai F. Rabbit calvarial and mandibular critical-sized bone defects as an experimental model for the evaluation of craniofacial bone tissue regeneration. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg.* 2022 Nov;123(6):601-9. doi: 10.1016/j.jormas.2021.12.001.
119. Zhu Y, Cao N, Zhang Y, Cao G, Hao C, Liu K, et al. The ability and mechanism of nHAC/CGF in promoting osteogenesis and repairing mandibular defects. *Nanomaterials (Basel).* 2022 Jan 10;12(2):212. doi: 10.3390/nano12020212.
120. Sun S, Zhou J. Molecular mechanisms underlying stress response and adaptation. *Thorac Cancer.* 2018 Feb;9(2):218-27. doi: 10.1111/1759-7714.12579.
121. Сабо Ш, Сабо К, Заячківська О, Жолт Ласто Даткі, Фестбаум Б, Фаршанг Ч, та ін. Стрес: від Ганса Сельє до сьогодні. Львів: ЛНМУ ім. Д. Галицького; 2019. 120 с.
122. Ou L, Tan X, Qiao S, Wu J, Su Y, Xie W, et al. Graphene-based material-mediated immunomodulation in tissue engineering and regeneration: mechanism and significance. *ACS Nano.* 2023 Oct 10;17(19):18669-87. doi: 10.1021/acsnano.3c03857.
123. Zdrojewicz Z, Pachura E, Pachura P. The thymus: a forgotten, but very important organ. *Adv Clin Exp Med.* 2016 Mar-Apr;25(2):369-75. doi: 10.17219/acem/58802.
124. Бумейстер ВІ. Корекція морфологічних перетворень кісткового регенерату великогомілкової кістки щурів в умовах дії зневоднення важкого ступеню. *Тавр. мед.-биол. вестн.* 2009;12(3):78-81.
125. Akbarian M, Khani A, Eghbalpour S, Uversky VN. Bioactive peptides: synthesis, sources, applications, and proposed mechanisms of action. *Int J Mol Sci.* 2022 Jan 27;23(3):1445. doi: 10.3390/ijms23031445.
126. Daliri EB, Oh DH, Lee BH. Bioactive peptides. *Foods.* 2017 Apr 26;6(5):32. doi: 10.3390/foods6050032.

127. Khavinson VK, Linkova NS, Chalisova NI, Ivko OM. The use of thymalin for immunocorrection and molecular aspects of biological activity. *Biol Bull Rev.* 2021;11(4):377–82. doi: 10.1134/S2079086421040046.
128. Shissler SC, Bhandoola A. ThymUS in times of stress. *Nat Immunol.* 2021 May;22(5):545-9. doi: 10.1038/s41590-021-00897-2.
129. Foertsch S, Haffner-Luntzer M, Kroner J, Gross F, Kaiser K, Erber M, et al. Chronic psychosocial stress disturbs long-bone growth in adolescent mice. *Dis Model Mech.* 2017 Dec 19;10(12):1399-409. doi: 10.1242/dmm.030916.
130. Звягінцева ТВ, Киричок ЛТ, Кратенко ГС, Карнаух ЕВ, Черкас ЛП, Ананько, та ін. Захисна дія тималіну при емоційному стресі в експерименті. *Ліки.* 2007;(5/6):83-9.
131. Тхоржевський БМ. Дія тималіну, тимогену та вілозену на клітинні та імуногенетичні показники при алергічних реакціях уповільненого типу [автореферат дисертації]. Київ:Київ. нац. ун-т ім. Т.Шевченка; 2002. 17 с.
132. Johnson L, Perschbacher K, Leong I, Bradley G. Oral manifestations of immunologically mediated diseases. *Atlas Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2017 Sep;25(2):171-85. doi: 10.1016/j.scom.2017.04.009.
133. Чернов ОЄ, Ніколішін АК. Застосування тималіну в комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит. Матеріали I (VIII) з'їзду Асоціації стоматологів України. 1999 Листопад 30-Груд 02; Київ. Київ; с. 261-2.
134. Силенко ЮІ, Хребер МВ. Динаміка показників імунітету хворих на генералізований пародонтит при комплексному лікуванні з застосуванням тималіну. *Укр. стоматол. альм.* 2003;(1):23-25.
135. Белоклицкая ГФ, Заверная АМ, Головня ИА, Бернадская ГП, Бакшутова НА, Волосовец ТН. Локальные способы применения иммуномодуляторов в комплексном лечении генерализованных заболеваний пародонта. *Вісн. стоматології.* 2003;(1 Спец. вип):51-3.

136. Cardoso EM, Reis C, Manzanares-Céspedes MC. Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases. *Postgrad Med.* 2018 Jan;130(1):98-104. doi: 10.1080/00325481.2018.1396876.
137. Otomo-Corgel J, Pucher JJ, Rethman MP, Reynolds MA. State of the science: chronic periodontitis and systemic health. *J Evid Based Dent Pract.* 2012 Sep;12(3 Suppl):20-8. doi: 10.1016/S1532-3382(12)70006-4.
138. Liu F, Wen YF, Zhou Y, Lei G, Guo QY, Dang YH. A meta-analysis of emotional disorders as possible risk factors for chronic periodontitis. *Medicine (Baltimore).* 2018 Jul;97(28):e11434. doi: 10.1097/MD.00000000000011434.
139. Hienz SA, Paliwal S, Ivanovski S. Mechanisms of bone resorption in periodontitis. *J Immunol Res.* 2015;2015:615486. doi: 10.1155/2015/615486.
140. Ткаченко ПІ, Митченко МП, Сідаш ЮВ. Комплексний підхід до лікування хронічного гранулюючого періодонтиту у хворих на цукровий діабет II типу. *Вісн. проблем біології і медицини.* 2013;(1 Т 1):252-6.
141. Мазур ІП, Супрунович ІМ, Слободяник МВ, Ананьєва АВ. Комбінована антибактеріальна терапія в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту. *Дентаклуб.* 2020;(5):33-8.
142. Zolotukhin S. Metabolic hormones in saliva: origins and functions. *Oral Dis.* 2013 Apr;19(3):219-29. doi: 10.1111/odi.12015.
143. Paqué PN, Hjerppe J, Zuercher AN, Jung RE, Joda T. Salivary biomarkers as key to monitor personalized oral healthcare and precision dentistry: A scoping review. *Front Oral Health.* 2022 Sep 22;3:1003679. doi: 10.3389/froh.2022.1003679.
144. Mohammad CA, Ali KM, Sha AM, Gul SS. Effect of Curcumin gel on inflammatory and anti-inflammatory biomarkers in experimental induced periodontitis in rats: a biochemical and immunological study. *Front Microbiol.* 2023 Nov 14;14:1274189. doi: 10.3389/fmicb.2023.1274189.
145. Soesilawati P, Notopuro H, Yuliati Y, Ariani MD, Alwino Bayu Firdauzy M. The role of salivary sIgA as protection for dental caries activity in Indonesian

- children. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2019 Sep 2;11:291-5. doi: 10.2147/CCIDE.S194865.
146. Khan ZM, Waheed H, Khurshid Z, Zafar MS, Moin SF, Alam MK. Differentially Expressed Salivary Proteins in Dental Caries Patients. *Biomed Res Int*. 2021 Oct 14;2021:5517521. doi: 10.1155/2021/5517521. PMID: 34692832; PMCID: PMC8531765.
147. Wan K, Su C, Yin F, Yao C. Prevalence and association of sIgA in saliva. *Turk J Biochem*. 2023;48(5):492-8.
148. Brichacek AL, Brown CM. Alkaline phosphatase: a potential biomarker for stroke and implications for treatment. *Metab Brain Dis*. 2019 Feb;34(1):3-19. doi: 10.1007/s11011-018-0322-3.
149. Sato M, Saitoh I, Kiyokawa Y, Iwase Y, Kubota N, Imano N, et al. Tissue-nonspecific alkaline phosphatase, a possible mediator of cell maturation: towards a new paradigm. *Cells*. 2021 Nov 28;10(12):3338. doi: 10.3390/cells10123338.
150. Koppolu P, Sirisha S, Mishra A, Deshpande K, Lingam AS, Alotaibi DH, et al. Alkaline phosphatase and acid phosphatase levels in saliva and serum of patients with healthy periodontium, gingivitis, and periodontitis before and after scaling with root planing: A clinico-biochemical study. *Saudi J Biol Sci*. 2021 Jan;28(1):380-5. doi: 10.1016/j.sjbs.2020.10.016.
151. Mustafa MN, Channar PA, Sarfraz M, Saeed A, Ejaz SA, Aziz M, et al. Synthesis, kinetic studies and in-silico investigations of novel quinolinyl-iminothiazolines as alkaline phosphatase inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2023 Dec;38(1):2163394. doi: 10.1080/14756366.2022.2163394.
152. Pylypchuk T, Koval M, Krynytska I. The investigation of bone metabolism biochemical indices in rats in the dynamics of the crush-syndrome development. *Scieces of Europe*. 2020;(59):20-3..
153. Manolagas SC. Osteocalcin promotes bone mineralization but is not a hormone. *PLoS Genet*. 2020 Jun 2;16(6):e1008714. doi: 10.1371/journal.pgen.1008714.

154. Wei J, Karsenty G. An overview of the metabolic functions of osteocalcin. *Curr Osteoporos Rep.* 2015 Jun;13(3):180-5. doi: 10.1007/s11914-015-0267-y. PMID: 25809656.
155. Zoch ML, Clemens TL, Riddle RC. New insights into the biology of osteocalcin. *Bone.* 2016 Jan;82:42-9. doi: 10.1016/j.bone.2015.05.046.
156. Berger JM, Singh P, Khrimian L, Morgan DA, Chowdhury S, Arteaga-Solis E, et al. Mediation of the acute stress response by the skeleton. *Cell Metab.* 2019 Nov 5;30(5):890-902. doi: 10.1016/j.cmet.2019.08.012.
157. Moser SC, Van der Eerden BCJ. Osteocalcin-A versatile bone-derived hormone. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019 Jan 10;9:794. doi: 10.3389/fendo.2018.00794.
158. Нішкумай ОІ, Мостбауер ГВ, Алексеєнко ОО, Москаленко КІ, Лазарєв ПО, Шевчук МІ. Артеріальна жорсткість, кальцифікація судин та остеопороз—спільні механізми взаємодії. *Біль. Суглоби. Хребет.* 2022;12(2):81-91. doi: <https://doi.org/10.22141/pjs.12.2.2022.333>.
159. Komori T. Functions of osteocalcin in bone, pancreas, testis, and muscle. *Int J Mol Sci.* 2020 Oct 12;21(20):7513. doi: 10.3390/ijms21207513.
160. Побел ЄА. *Порушення структурно-функціонального стану кісткової тканини у хворих після переломів довгих кісток: профілактика та лікування [дисертація].* Запоріжжя: Запоріз. мед. акад. післядиплом. освіти МОЗ України; 2015. 332 с.
161. Бамбуляк АВ. Структурнофункціональний стан кісткової тканини при застосуванні тканинних еквівалентів кісткової тканини на основі ММСК–ЖТ. *Укр. журн. медицини, біології та спорту.* 2019;4(5):39-44. doi:10.26693/jmbs04.05.039.
162. Бамбуляк АВ Кузняк НБ, Дмитренко РР, Гончаренко ВА. Динаміка показників маркерів кісткового метаболізму при заміщенні кісткових дефектів тканинними еквівалентами кісткової тканини на основі ММСК-ЖТ. *Клін. стоматологія.* 2019;(3):68-75. doi: 10.11603/2311-9624.2019.3.10568

163. Zhang Z, Nam HK, Crouch S, Hatch NE. Tissue nonspecific alkaline phosphatase function in bone and muscle progenitor cells: control of mitochondrial respiration and ATP production. *Int J Mol Sci.* 2021 Jan 24;22(3):1140. doi: 10.3390/ijms22031140.
164. Sharma U, Pal D, Prasad R. Alkaline phosphatase: an overview. *Indian J Clin Biochem.* 2014 Jul;29(3):269-78. doi: 10.1007/s12291-013-0408-y. Epub 2013 Nov 26. PMID: 24966474; PMCID: PMC4062654.
165. Vimalraj S. Alkaline phosphatase: Structure, expression and its function in bone mineralization. *Gene.* 2020 Sep 5;754:144855. doi: 10.1016/j.gene.2020.144855.
166. Zhang CZ, Cheng XQ, Li JY, Zhang P, Yi P, Xu X, Zhou XD. Saliva in the diagnosis of diseases. *Int J Oral Sci.* 2016 Sep 29;8(3):133-7. doi: 10.1038/ijos.2016.38.
167. Ahsan H. Biomolecules and biomarkers in oral cavity: bioassays and immunopathology. *J Immunoassay Immunochem.* 2019;40(1):52-69. doi: 10.1080/15321819.2018.1550423.
168. Ahmad A, Imran M, Ahsan H. Biomarkers as biomedical bioindicators: approaches and techniques for the detection, analysis, and validation of novel biomarkers of diseases. *Pharmaceutics.* 2023 May 31;15(6):1630. doi: 10.3390/pharmaceutics15061630.
169. Марковська ІВ, Соколова ІІ, Мірошніченко МС, винахідники; Харківський національний медичний університет, патентовласник. Спосіб забору слини у щурів. Патент України на винахід UA 112136 С2. 2016 Лип. 25.
170. Ковальчук АВ, Зінич ОВ, Кушнар'ова НМ, Прибила ОВ, Шишкань-Шишова КО. Роль остеокальцину в розвитку й прогресуванні серцево-судинних захворювань. *Міжнар. ендокринолог. журн.=Int. J Endocrinol.* 2023;19(5):398-403.

171. Левицкий АП, Марченко АИ, Рыбак ТЛ. Сравнительная оценка трех методов определения активности фосфатазы слюны. Лаб. дело. 1973;(10):624-5.
172. Гаврильців СТ. Вдосконалення діагностично - лікувального алгоритму при радикулярних кістах щелеп пацієнтів із диференційованим остеорегенераторним статусом [дисертація]. Львів: Львів нац. мед. ун-т ім. Д. Галицького; 2020. 208 с.
173. Ivanova M, Myroshnychenko M, Khara G, Arseniev O, Olkhovsky V, Grygorian E, Fedulenkova Y, Kozlov S. Analysis of color properties of raster images of histological microspecimens: own research experience. Мед. перспективи. 2022;27(1):9-15.
174. Бамбуляк АВ. Обґрунтування ефективності хірургічного лікування дефектів кісткової тканини щелеп із застосуванням клітинних технологій [дисертація]. Чернівці: Буковин. держ. мед. ун-т МОЗ України; 2023. 414 с.
175. Boiko AA, Malanchuk VA, Myroshnychenko MS.. Reparative osteogenesis in mandible in cases of filling a bone defect with hydroxyapatite-containing osteotropic material and injecting the surrounding soft tissues with thymalin: experimental and morphological study. Wiad Lek. 2024;77(1):68-76. doi: 10.36740/WLek202401110
176. Бойко АА, Наконечна ОА. Динаміка біохімічних маркерів гуморального імунітету та метаболізму в кістковій тканині нижньої щелепи за умов впливу на репаративний остеогенез. Укр. стоматол. альм. 2024;(1):6-12. doi.org/10.31718/2409-0255.1.2024.01
177. Boiko AA, Malanchuk VA, Myroshnychenko MS, Markovska OV., Shapkin AS, Marakushyn DI. Expression features of T-lymphocytes, B-lymphocytes and macrophages in the post-traumatic regenerate of the mandible rats under conditions of filling a bone defect with hydroxyapatite-containing osteotropic material and thymalin injecting the surrounding soft tissues. Pol Merkur Lek,. 2024;53(1):171-7. doi: 10.36740/

ДОДАТКИ

Додаток А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

1 Boiko AA, Malanchuk VA, Myroshnychenko MS.. Reparative osteogenesis in mandible in cases of filling a bone defect with hydroxyapatite-containing osteotropic material and injecting the surrounding soft tissues with thymalin: experimental and morphological study. Wiad Lek. 2024;77(1):68-76. doi: 10.36740/WLek202401110 *(Здобувачем проведено виконання експериментального дослідження, статистична обробка результатів, аналіз даних та написання статті, висновки сформульовано із співавтором).*

2. Бойко АА, Наконечна ОА. Динаміка біохімічних маркерів гуморального імунітету та метаболізму в кістковій тканині нижньої щелепи за умов впливу на репаративний остеогенез. Укр. стоматол. альм. 2024;(1):6-12. doi.org/10.31718/2409-0255.1.2024.01 *(Здобувачем проведено виконання експериментального дослідження, статистична обробка результатів, аналіз даних та написання статті, висновки сформульовано із співавтором).*

3. Boiko AA, Malanchuk VA, Myroshnychenko MS, Markovska OV., Shapkin AS, Marakushyn DI. Expression features of T-lymphocytes, B-lymphocytes and macrophages in the post-traumatic regenerate of the mandible rats under conditions of filling a bone defect with hydroxyapatite-containing osteotropic material and thymalin injecting the surrounding soft tissues. Pol Merkur Lek,. 2024;53(1):171-7. doi: 10.36740/Merkur202402105 *(Здобувачем проведено виконання експериментального дослідження, статистична обробка результатів, аналіз даних та написання статті, висновки сформульовано із співавтором)*

Додаток Б

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

1. Гусейнов АН, Бойко АА. Місцева терапія імуностимулятора тимолін при лікуванні хворих на переломи нижньої щелепи. Укр. наук.-мед. молодіж. журн. 2020;(Спец вип 4, Annual young medical scientists` conference 2020; 2020 Nov 27-28; Kyiv):56-7.

2. Маланчук ВО, Гусейнов АН, Бойко АА. Застосування тималіну при лікуванні хворих на відкриті переломи нижньої щелепи: В: Маланчук ВО, ред Матеріали VII з'їзду Української асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів. До 180-річчя НМУ та 25-річчя Української асоціації щелепно-лицевих хірургів. 2021 Трав 14; Київ Київ; 2021 с. 95-6.

3. Мланчук ВО, Бойко АА. Лімфотропна терапія тимоліном при відкритих переломах нижньої щелепи В: Матеріали наук.-практ. конф. Сучасна стоматологія та щелепно-лицева хірургія. 2022 Трав 13; Київ. Київ; 2022. с. 81-3.

4. Маланчук ВО, Бойко АА. Обґрунтування використання імункоректора «Тималін» при захворюваннях щелепно-лицевої ділянки». В: Матеріали VIII з'їзду Української асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів. З нагоди 30-ліття НАМН України, 20-ліття введення в НАМН фаху «Стоматологія». 2023 Трав 12; Київ. Київ; 2023. с. 30-6.

5. Vladyslav Malanchuk, Agil Huseynov, Andrii Boiko. Lymphotropic therapy in treatment of mandible fractures: [Eposter.] 25th Congress of the European Association for Cranio Maxillo Facial Surgery virtual congress, held in July 14-16, 2021.

Додаток В

Договір про науково-практичне співробітництво по морфології

ДОГОВІР №
про науково - практичне співробітництво
між Національним медичним університетом імені О.О. Богомольця та
Харківським національним медичним університетом

м. Харків

«10» *серпня* 2023 р.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, в особі проректора з наукової роботи та інновацій, професора С.В. Земскова, який діє на підставі Статуту, та Харківський національний медичний університет, в особі ректора проф. В.А. Капустника, який діє на підставі Статуту, уклали цей договір про наступне:

1. Предмет договору.

1.1. Про науково-практичне співробітництво між кафедрою хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця та кафедрою загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету з метою удосконалення лікувально-діагностичних заходів при захворюваннях кісткових тканин лицьового черепа.

2. Права та обов'язки сторін.

2.1. Сторони зобов'язуються:

- систематично інформувати іншу сторону про результати наукової роботи;
- інформувати іншу сторону про проведення міжнародних, національних конгресів, з'їздів, конференцій;
- розробляти та виконувати спільні наукові теми, готувати спільні наукові статті та тези;
- проводити регулярні зустрічі з метою формування планів наукової роботи, обговорення результатів проведених досліджень.

2.2. Харківський національний медичний університет зобов'язується:

- систематизувати і аналізувати отримані дані досліджень;
- надавати консультативну допомогу відносно досліджень, що проводяться;
- надавати співробітникам кафедри хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця інформацію про результати проведених досліджень;
- забезпечити проведення контролю якості дослідження.

2.3. Національний медичний університет імені О.О. Богомольця зобов'язується:

- забезпечити проведення дослідження біологічним матеріалом, отриманим від експериментальних тварин (щурів популяції WAG), в передбаченому чинним законодавством порядку;

- забезпечити заплановані дослідження реактивами та лабораторним посудом у відповідності з переліком планових досліджень;
- систематизувати і аналізувати отримані дані досліджень;
- надавати консультативну допомогу відносно досліджень, що проводяться.

3. Права та порядок використання результатів сумісних наукових досліджень.

3.1. Питання використання результатів сумісних наукових досліджень, розробок та іншої інформації, отриманої при співробітництві Сторін, питання патентування, захисту авторських прав вирішуються Сторонами за погодженням на підставі діючого законодавства.

3.2. Отримані сторонами результати спільних наукових робіт публікуються за погодженням сторін.

3.3. Отримані в процесі спільного виконання робіт результати не можуть передаватися третім особам без письмово погодження обох сторін цього договору.

4. Зміни, доповнення, розірвання договору та його строк.

4.1. Зміни та доповнення до цього договору вносяться за погодженням Сторін та оформлюються письмово, як невід'ємна частина договору.

4.2. Договір може бути розірвано достроково:

- за згодою сторін;
- на підставах, встановлених діючим законодавством;
- за рішенням суду;
- у разі ліквідації однієї із сторін, якщо не визначена юридична особа, що є правонаступником ліквідованої сторони.

4.3. Договір набирає силу з моменту підписання його сторонами і діє до 1 грудня 2029 року.

5. Відповідальність Сторін.

5.1. У разі невиконання або неналежного виконання умов даного Договору Сторони несуть відповідальність згідно норм чинного законодавства України.

5.2. Відповідальними особами по виконанню Договору призначаються:

- Національний медичний університет імені О.О. Богомольця – асистент А.А. Бойко;
- Харківський національний медичний університет – д.мед.н., професор, завідувач кафедри М.С. Мирошніченко.

6. Інші умови.

6.1. Цей договір не містить будь-яких фінансових зобов'язань і матеріально-технічної відповідальності і зобов'язань між Сторонами.

Додаток Г

Договір про науково-практичне співробітництво по біохімії

ДОГОВІР № 01-24-Н
про науково - практичне співробітництво
між Національним медичним університетом імені О.О. Богомольця та
Харківським національним медичним університетом

м. Харків

«25» серпня 2024 р.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, в особі проректора з наукової роботи та інновацій, професора Земскова С.В., який діє на підставі Статуту, та Харківський національний медичний університет, в особі ректора проф. В.А. Капустника, який діє на підставі Статуту, уклали цей договір про наступне:

1. Предмет договору.

1.1. Про науково-практичне співробітництво між кафедрою хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця та кафедрою біологічної хімії Харківського національного медичного університету з метою проведення наукових досліджень відносно вивчення механізмів та особливостей репаративного остеогенезу в нижній щелепі щурів в умовах використання різних методів лікування.

2. Права та обов'язки сторін.

2.1. Сторони зобов'язуються:

- систематично інформувати іншу сторону про результати наукової роботи;
- інформувати іншу сторону про проведення міжнародних, національних конгресів, з'їздів, конференцій;
- розробляти та виконувати спільні наукові теми, готувати спільні наукові статті та тези;
- проводити регулярні зустрічі з метою формування планів наукової роботи, обговорення результатів проведених досліджень.

2.2. Харківський національний медичний університет зобов'язується:

- систематизувати і аналізувати отримані дані досліджень;
- надавати консультативну допомогу відносно досліджень, що проводяться;
- надавати співробітникам кафедри хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця інформацію про результати проведених досліджень;
- забезпечити проведення контролю якості дослідження.

2.3. Національний медичний університетом імені О.О. Богомольця зобов'язується:

- забезпечити проведення дослідження біологічним матеріалом, отриманим від експериментальних тварин (щурів популяції WAG), в передбаченому чинним законодавством порядку;

- забезпечити заплановані дослідження реактивами та лабораторним посудом у відповідності з переліком планових досліджень;
- систематизувати і аналізувати отримані дані досліджень;
- надавати консультативну допомогу відносно досліджень, що проводяться.

3. Права та порядок використання результатів сумісних наукових досліджень.

3.1. Питання використання результатів сумісних наукових досліджень, розробок та іншої інформації, отриманої при співробітництві Сторін, питання патентування, захисту авторських прав вирішуються Сторонами за погодженням на підставі діючого законодавства.

3.2. Отримані сторонами результати спільних наукових робіт публікуються за погодженням сторін.

3.3. Отримані в процесі спільного виконання робіт результати не можуть передаватися третім особам без письмово погодження обох сторін цього договору.

4. Зміни, доповнення, розірвання договору та його строк.

4.1. Зміни та доповнення до цього договору вносяться за погодженням Сторін та оформлюються письмово, як невід'ємна частина договору.

4.2. Договір може бути розірвано достроково:

- за згодою сторін;
- на підставах, встановлених діючим законодавством;
- за рішенням суду;
- у разі ліквідації однієї із сторін, якщо не визначена юридична особа, що є правонаступником ліквідованої сторони.

4.3. Договір набирає силу з моменту підписання його сторонами і діє до 1 грудня 2028 року.

5. Відповідальність Сторін.

5.1. У разі невиконання або неналежного виконання умов даного Договору Сторони несуть відповідальність згідно норм чинного законодавства України.

5.2. Відповідальними особами по виконанню Договору призначаються:

- Національний медичний університетом імені О.О. Богомольця – асистент А.А. Бойко;
- Харківський національний медичний університет – д.мед.н., професор, завідувач кафедри О.А. Наконечна.

6. Інші умови.

6.1. Цей договір не містить будь-яких фінансових зобов'язань і матеріально-технічної відповідальності і зобов'язань між Сторонами.

6.2. Всі суперечні питання вирішуються шляхом двосторонніх переговорів, а при неможливості прийти до згоди, вирішуються в порядку, що передбачений діючим законодавством України.

6.3. Цей договір складено в чотирьох примірниках, що мають однакову юридичну силу: два Харківському національному медичному університету та два Національному медичному університету імені О.О. Богомольця.

7. Адреси сторін

Харківський національний медичний університет

61022, м. Харків, пр. Науки, 4



В.А. Капустник

Проректор з наукової роботи

В.В. М'ясоєдов

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

01601, м. Київ, бульвар Тараса Шевченка, 13

Тел.: (044) 234-40-62

Проректор з наукової роботи та інновацій



В. Земсков

Відповідальний викладаць, асистент кафедри хірургічної стоматології та шелепно-лицьової хірургії

А.А. Бойко

Завідувач кафедри біологічної хімії

О.А. Наконечна

Додаток Г

Сертифікат відповідності тималін

STADA

ТОВ «ФЗ «БІОФАРМА»
09100, Україна, Київська область, м. Біла Церква,
вулиця Київська, 37

ДОЗВІЛ НА РЕАЛІЗАЦІЮ/СЕРТИФІКАТ СЕРІЇ

№065/2023/UA від 07.04.2023

1.	Найменування продукції:	ТИМАЛІН
2.	Статус продукції:	готовий лікарський засіб
3.	Країна-виробник:	Україна
4.	Реєстраційне посвідчення (РП):	№ UA/2989/01/01, діє безстроково
5.	Сила дії/активність:	не менше 1,5 мг в перерахунку на поліпептиди
6.	Лікарська форма:	ліофілізат для розчину для ін'єкцій
7.	Розмір та тип пакування:	5 флаконів з ліофілізатом у блістері; по 2 блістери у паці з картону з маркуванням українською мовою
8.	Номер серії:	20323A2
9.	Розмір серії, одиниця виміру:	1 114 пакувань
10.	Дата виробництва:	10.03.2023
11.	Дата закінчення терміну придатності:	03 2026
12.	Назви та адреси всіх дільниць з виробництва та контролю якості:	Виробництво (включаючи пакування/маркування): ТОВ «ФЗ «БІОФАРМА» (Київська область, м. Біла Церква, вулиця Київська, 37) Контроль якості: відділ контролю якості ТОВ «ФЗ «Біофарма» (Київська область, м. Біла Церква, вулиця Київська, 37); Державна науково-дослідна лабораторія з контролю якості лікарських засобів ДУ «ІГЗ ім. О.М. Марзєєва НАМНУ» (м.Київ, вул.Попудренко, 50) Лабораторія з контролю якості біологічних препаратів інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (м. Київ, вулиця Заболотного, 154)
13.	Сертифікати відповідності GMP та номери ліцензії для всіх дільниць, наведених у попередньому пункті:	Ліцензія на виробництво лікарських засобів № 193895, серія АЕ Свідцтво про атестацію відділу контролю якості ТОВ «ФЗ «Біофарма» № 395 Свідцтво про атестацію Державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів ДУ «ІГЗ ім.О.М.Марзєєва НАМНУ» № 410 Свідцтво про атестацію лабораторії з контролю якості біологічних препаратів інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України №393
14.	Результати аналізів:	Наведені в сертифікаті аналізів Додаток 1 до СОП 20-00-04 «Сертифікат аналізів» - додається

Умови зберігання: В оригінальній упаковці для захисту від дії світла при температурі не вище 25°C.
Термін придатності – 3 роки.

Цим я засвідчую, що наведена вище інформація є достовірною та точною. Цю серію продукції було вироблено (включаючи пакування/маркування) та проведено контроль її якості на ТОВ «ФЗ «БІОФАРМА» у відповідності до діючої документації, а також відповідно до специфікації, що містяться у реєстраційних документах. Протоколи виробництва, пакування та контролю серії було переглянуто, встановлено відповідність.

Уповноважена особа з якості
ТОВ «ФЗ «БІОФАРМА»

Редакція 3

Додаток 8 до СОП 55-00-02-Дозвіл на реалізацію/Сертифікат серії



ВКСАН 1257011404236

СЕРТИФІКАТ АНАЛІЗІВ
№В/1178/16.03.2023/UA від 06.04.2023

ТИМАЛІН

Найменування продукції Ліофілізат для розчину для ін'єкцій
Статус продукції не менше 1,5 мг в перерахунку на поліпептиди у флаконах №10 (5x2) у блістерах
готовий лікарський засіб

Номер серії 20323A2 Розмір серії, одиниця виміру 1 114 пакувань

Внутрішній код В/1178/16.03.2023

Дата випуску продукції 06.04.2023

Дата закінчення терміну придатності 03 2026 Випробування проведені згідно МКЯ до РП № UA/2989/01/01, зміни

Найменування показників	Вимоги МКЯ до РП № UA/2989/01/01, зміни	Результати випробувань	Методи контролю
Опис	Аморфний порошок або пориста маса білого або білого з жовтуватим відтінком кольору	Пориста маса білого з жовтуватим відтінком кольору	Візуально
Час розчинення	Не більше 1 хвилини	Менше 1 хв	За п.2 МКЯ
Ідентифікація: - Тималін	Хроматограма випробовуваного розчину має профіль, подібний профілю хроматограми розчину порівняння (b)	Відповідає	ДФУ/Еур.Рн, 2.2.29
- Біологічна активність	Препарат повинен відновлювати число РУК (розеткоутворюючих клітин), знижене під впливом тринісину	Відповідає	За п.3 МКЯ
- Поліпептиди	Характерна реакція	Відповідає	За п.3 МКЯ
- Залишки нуклеїнових кислот	Характерна реакція	Відповідає	За п.3 МКЯ
- Фосфор	Характерна реакція	Відповідає	За п.3 МКЯ
- Фосфатиди-лецитини	Характерна реакція	Відповідає	За п.3 МКЯ
- Гліцин	На хроматограмі випробовуваного розчину час утримання динітрофенільного похідного гліцину має відповідати часу утримання динітрофенільного похідного гліцину на хроматограмі розчину порівняння (b)	Відповідає	ДФУ/Еур.Рн, 2.2.29
Прозорість розчину	Прозорий або за ступенем опалесценції не перевищує еталон ІІ	Прозорий	ДФУ/Еур.Рн, 2.2.1
Ступінь забарвлення розчину	Не інтенсивніше еталону У ₄	Не інтенсивніше У ₄	ДФУ/Еур.Рн, 2.2.2
pH	5,2 – 6,0	5,6	ДФУ/Еур.Рн, 2.2.3
Цілик	Не більше 0,35 %	Менше 0,35 %	ДФУ, 2.4.N.1
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 6,0 %	2,2 %	ДФУ/Еур.Рн, 2.2.32
Однорідність маси	Не більше двох індивідуальних мас можуть відхилитися від середньої маси більше ніж на 10%. При цьому жодна індивідуальна маса не повинна відхилитися від середньої маси більше ніж на 20%	Відповідає	ДФУ/Еур.Рн, 2.9.5
Високомолекулярні домішки	Не більше 10%	2 %	ДФУ/Еур.Рн, 2.2.29
Механічні включення: - Видимі частки - Невидимі частки	Препарат має витримувати вимоги. Мають бути практично відсутні. 10 мкм і більше – не більше 6000/ флакон 25 мкм і більше – не більше 600/ флакон	Відповідає 39,1 / фл. 0,1 / фл.	ДФУ/Еур.Рн, 2.9.20 ДФУ/Еур.Рн, 2.9.19
Бактеріальне забруднення	Менше 5,83 МО/мг	Менше 5,83 МО/мг	ДФУ/Еур.Рн, 2.6.14
Стерильність	Стерильний	Стерильний	ДФУ/Еур.Рн, 2.6.1
Кількісний вміст: - Поліпептиди	Не менше 1,5 мг/флакон	2,2 мг/ фл.	ДФУ/Еур.Рн, 2.2.25
- Фосфор	Не менше 35 мкг/ флакон	50 мкг/ фл.	ДФУ/Еур.Рн, 2.2.25
- Біологічна активність	Відповляє число РУК не менше, ніж на 40%	43 %	За п.14.3 МКЯ
- Гліцин	0,017 - 0,023 г/ флакон	0,020 г/ фл.	ДФУ/Еур.Рн, 2.2.29
Маркування	Вимоги МКЯ до РП № UA/2989/01/01, зміни	Відповідає	Згідно МКЯ
Пакування	Вимоги МКЯ до РП № UA/2989/01/01, зміни	Відповідає	Згідно МКЯ

Серія виготовлена із сировини, яка одержана з регіонів, вільних від пріонних інфекцій.
Умови зберігання: В оригінальній упаковці для захисту від дії світла при температурі не вище 25°С, термін придатності – 3 роки.
Висновок: зразки відповідають вимогам МКЯ до РП № UA/2989/01/01, зміни за наведеними вище показниками.
Результати стосуються протестованого зразка і можуть бути екстрапольовані на інші серії за умови дотримання вимог.

Статус	Посада	П.І.Б.	Дата
Розроблено:	старший інженер з якості	Батрак Н.В.	06.04.2023
Перевірено:	/начальник ВКЯ/ Місярчук Євгенія	/Устенко Є.П./ Устенко Є.П.	06.04.2023

Редакція 2

Додаток 1 до СОП 20-00-04 «Сертифікат аналізів»

Стр.1 з 1

Додаток Д
Сертифікат відповідності Біомін ГТ


УКРАЇНА
ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ З ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ
СВІДОЦТВО ПРО ДЕРЖАВНУ РЕЄСТРАЦІЮ

№ 14986/2015

Медичний виріб
Імпланти кісткові на основі керамічного гідроксиапатиту та
трикальційфосфату "Біомін" ТУ У 33.1-00235016-001:2010

ПБ

в Додатку до даного Свідоцтва

Виробник
Центр науково-технічних послуг "РАПЦ"
товариство з обмеженою відповідальністю
03142, м. Київ, вул. Крайчиківського, 3, Україна

що відповідає реєстраційним матеріалам, згідно з наказом Державної служби
України з лікарських засобів від 30.06.2015 № 501 внесений до Державного реєстру
медичної техніки та виробів медичного призначення і дозволений для застосування на
території України.

Строк дії свідцтва необмежений

Перший заступник Голови  О.А. Алкессва
МП



MD №088845