

На правах рукописи

ЛОПАТИНА НАТАЛЬЯ ВИКТОРОВНА

**КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ЛЕЧЕНИЯ РЕЦЕССИИ ДЕСНЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

3.1.7. Стоматология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Уфа — 2025

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент
Хайбуллина Расима Рашитовна

Официальные оппоненты:

Атрушкевич Виктория Геннадьевна - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой терапевтической стоматологии и пародонтологии

Светлакова Елена Николаевна - доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доцент кафедры терапевтической стоматологии и пропедевтики стоматологических заболеваний

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится: «__»_____2025 г. в часов на заседании диссертационного совета 21.2.004.02 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 450008, г Уфа, ул. Ленина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте: [http:// www.bashgmu.ru/dissertatsii](http://www.bashgmu.ru/dissertatsii).

Автореферат разослан «__»_____2025 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Валеев Марат Мазгарович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Рецессия десны - потеря тканей пародонта в апикальном направлении и оголение корневой поверхности продолжает оставаться актуальной в стоматологии. В последние годы происходит увеличение числа пациентов с рецессией десны, которые обращаются за помощью в стоматологические клиники (Мандра Ю.В. и др., 2021).

Благодаря современным технологиям, оборудованию и профессиональному уровню специалистов лечение может дать хорошие результаты (Атрушкевич В.Г. и др., 2021). Но, иногда возникают осложнения: рецидив, некроз тканей, отторжение трансплантата, кровотечение, потеря пародонтального прикрепления. Часто, врачи при лечении рецессии, встречаются со сложностью проведения манипуляций из-за имеющихся местных травмирующих факторов. В данный момент отсутствует определенное мнение врачей по вопросу первостепенности пародонтологического или хирургического лечения (Чуйкин С.В. и др., 2023).

Наличие сочетающихся патологий пародонта и зубочелюстных аномалий намного повышает длительность лечения. По данным Всемирной Организации Здравоохранения распространенность заболеваний пародонта доходит до 97,8 %, среди которых группа рецессий составляет от 15 до 87 % (Герасимова Л.П. и др., 2020).

Пациенты, после ортодонтического лечения, в наибольшей степени подвержены развитию рецессий (Аверьянов С.В. и др., 2022).

С возрастом нарушения в пародонте увеличиваются. В проработанной нами литературе отсутствуют исследования гистоморфологического состояния краевой десны при рецессиях. Применяемые методики лечения рецессий не всегда дают хороший результат, возникает рецидив (Булгакова А.И. и др., 2023).

Распространенным методом устранения рецессии десны является ликвидация эстетического дефекта и чувствительности оголившегося участка зуба, но хорошие результаты могут быть получены лишь при восполнении потерянных структур. Существующие в настоящее время хирургические методы лечения рецессии травматичны, инвазивны, болезненны и вызывают ряд осложнений, а также имеют ряд противопоказаний (Мирсаева Ф.З. и др., 2023).

Поэтому большой интерес представляют разработка методов, которые будучи малоинвазивными, не травматичными и эффективными, не будут вызывать рецидив заболевания.

Вопросы разработки не травматичных, малоинвазивных методов лечения рецессии десны актуальны по настоящее время и требуют дальнейшего изучения данной проблемы.

Цель исследования

Улучшить результаты лечения пациентов с рецессией десны и изучить эффективность лечебных технологий на основе мезенхимальных стволовых клеток, бесклеточного матрикса и фитоэкстракта в эксперименте.

Задачи исследования

1. Провести ретроспективный анализ причин развития рецессии десны и оценить эффективность применяемых способов лечения.
2. Изучить результаты лечения рецессии десны при использовании коронально-смещенного лоскута.
3. Изучить эффективность использования фитоэкстракта на основе хлорофилла в периоперационном периоде лечения рецессии десны. Оценить отдаленные результаты.
4. Разработать экспериментальную модель рецессии десны у животных.

5. Изучить эффективность оригинальной технологии лечения рецессии десны на основе комплексного применения мезенхимальных стволовых клеток, бесклеточного матрикса и аппликаций фитоэкстракта.

Научная новизна

Впервые проведено ретроспективное исследование с изучением причин развития рецессии десны и эффективности применяемых способов лечения.

Впервые при лечении пациентов с рецессией в послеоперационном периоде применен фитоэкстракт, который обладает противовоспалительным и регенеративным эффектом.

Впервые проведен анализ осложнений и рецидивов заболевания рецессии десны при лечении с применением методики коронально-смещенного лоскута.

Впервые получены данные о применении фитоэкстракта при лечении рецессии десны. Показана его высокая регенеративная и репаративная активность в отношении мягких тканей при комплексном лечении рецессии десны.

Впервые на лабораторных животных создана экспериментальная модель рецессии десны.

Впервые изучено действие мезенхимальных стволовых клеток и бесклеточного матрикса на мягкие ткани десны в условиях экспериментальной рецессии у крыс. Клиническими, фотометрическими, гистоморфологическими и ультразвуковыми методами исследований доказана их высокая регенеративная активность и эффективность.

Теоретическая и практическая значимость

Разработана карта-опросник при обследовании пациентов с рецессией десны и внедрена в практику врача-стоматолога. Проведен анализ осложнений и рецидивов заболевания рецессии десны при лечении с применением методики коронально-смещенного лоскута.

Разработана экспериментальная модель рецессии десны, основанная на патогенетических факторах развития данного заболевания. Она в дальнейшем может использоваться и другими исследователями для разработки и апробации новых способов лечения.

На основании проведенных гистоморфологических исследований установлены регенераторные возможности мезенхимальных стволовых клеток и бесклеточного матрикса в отношении тканей десны у экспериментальных животных.

Разработана карта-опросник, позволяющая врачу, оценить клинικο-морфофункциональный статус пациентов с рецессией десны.

Полученные результаты при применении разработанного способа лечения рецессии десны у экспериментальных животных с использованием мезенхимальных стволовых клеток на бесклеточном матриксе и применением фитоэкстракта, позволили теоретически обосновать предлагаемый способ лечения и доказать необходимость применения регенеративной терапии в комплексном лечении данного заболевания.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Хирургическое лечение пациентов с рецессией десны по принятым технологиям в силу травматичности не позволяют уменьшить осложнения и рецидивы в 52,38%.
2. Аппликации фитоэкстракта на основе хлорофилла по оригинальной технологии улучшают репаративную регенерацию десны на 23,71% , но не снижают количество рецидивов.
3. Оригинальная экспериментальная модель рецессии десны позволяет объективно оценить эффективность комплексного применения мезенхимальных стволовых клеток, бесклеточного матрикса и аппликаций из фитоэкстракта.

Степень достоверности и апробация результатов, личное участие автора

Достоверность результатов исследования, обоснованность выводов и рекомендаций основаны на достаточном количестве клинических и экспериментальных наблюдений, использовании современных методов диагностики, лечения и корректных методов статистической обработки материала, с помощью лицензионного пакета компьютерных программ, расчеты и аналитические методы для описания полученных результатов.

Личный вклад автора в выполнение исследования. При личном участии автора было проведено: планирование диссертационной работы, углубленный обзор и анализ научной литературы, патентный и информационный поиск по теме работы, набор клинического и экспериментального материала, анализ и интерпретация клинических, экспериментальных и инструментальных исследований, статистическая обработка результатов, регистрация научных публикаций и диссертаций.

Внедрение результатов работы. Результаты работы внедрены и используются в учебно-методической работе со студентами, ординаторами и аспирантами на кафедрах терапевтической и ортопедической стоматологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Включены в план научной работы лаборатории клеточных культур БГМУ. Карта опросник используется в работе врачей стоматологов терапевтов, пародонтологов, ортопедов, хирургов и ортодонтотв в ГБУЗ РБ стоматологической поликлинике №5 г. Уфы, Клинической стоматологической поликлинике БГМУ, стоматологической клинике ООО «Жемчужина», ООО «Дентиум», ООО «Тэшдент».

Апробация работы и публикации. Основные положения работы обсуждались на: «Научные исследования стран ШОС: синергия и интеграция» (Пекин (Китай), 2021), XI Приволжском стоматологическом форуме «Актуальные вопросы стоматологии» (Уфа, 2021), 86-ой Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Вопросы теоретической и практической медицины» (Уфа, 2021), IV Международном Конгрессе стоматологов «Актуальные проблемы стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» (Ташкент (Узбекистан), 2021), Форуме «Стоматология Республики Башкортостан» (Уфа, 2022), I Съезде стоматологов (город Актобе (Казахстан), 2022), III Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы профилактики стоматологических заболеваний в детской стоматологии» (Ташкент (Узбекистан), 2022), III Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы профилактики стоматологических заболеваний в детской стоматологии» (Ташкент (Узбекистан), 2022), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные тенденции современной стоматологии» (Уфа, 2023).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 14 работ, из них 7 в изданиях, рекомендованных ВАК. Получено 3 патента РФ.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 104 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований их обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 198 источников (123 работы отечественных авторов и 75 зарубежных). Присутствуют иллюстрации в количестве 26 рисунков, представлено 6 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Условия, объем и методы исследований. Работа включала три этапа: ретроспективное, клиническое исследование и экспериментальная часть. Ретроспективное исследование пациентов с рецессией (25-64 года) проводилось на данных 1570 медицинских карт больных с заболеваниями пародонта в клинике Витадент г. Уфы, в период с 2017 по

2022 год. Оценивали заполняемость документации при лечении пациентов с рецессией, считали удельный вес, ошибки и осложнения при лечении пациентов с данной патологией.

Комплексное стоматологическое обследование и лечение проводилось на 123 пациентах и включало: опрос, осмотр полости рта пациента, выявление жалоб, анамнеза жизни, развития заболевания, а также проведение оперативного лечения методикой коронально-смещенного лоскута. Контрольную группу составили 35 здоровых лиц, идентичные по возрасту. Исследования проводились на клинических базах кафедр терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО БГМУ, стоматологической клиники ООО «Витадент» с 2020 по 2024 гг.

В основу работы экспериментального исследования вошли 50 крыс породы Вистар. Контрольную группу составили 15 животных того же возраста, которые были обследованы для уточнения параметров нормы. Экспериментальные исследования проводились в центральной научно-исследовательской лаборатории, лаборатории клеточных культур, иммуно-гистохимической лаборатории ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России с 2021 по 2023 гг. Обследование и динамическое наблюдение во всех группах проводилось в одинаковые сроки.

Критерии включения пациентов в исследование: наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании, возраст 25 -64 года, пол: женский и мужской, диагноз рецессия десны (МКБ -10 К 06.0) II класса по Миллеру, отсутствие сопутствующей соматической патологии, отсутствие аллергологического анамнеза и отсутствие воспалительных заболеваний пародонта (ВЗП).

Критериями исключения пациентов в исследование являлись: не соответствие возрасту, беременность и кормление грудью, диагноз рецессия десны (МКБ -10 К 06.0) I, III, IV класса по Миллеру, наличие сопутствующей патологии, аллергологический анамнез, ВЗП, отказ пациента от участия в исследовании. Также исключали пациентов с вредными привычками.

Критерии включения животных в исследование: крысы возрастом 1 год, самки.

Критериями исключения явились: не соответствие возрасту и наличие заболеваний.

Все манипуляции с животными проводили в соответствии со следующими документами:

-санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально биологических клиник (вивариев) № 1045-73 от 06.04.1973 г.;

-Конвенцией по защите животных, используемых в эксперименте и других научных целях (г. Страсбург, Франция, 1986);

-Директивой Совета 86/609/ЕЕС от 24.11.86 г. по согласованию законов, правил и административных распоряжений стран участниц в отношении защиты животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, руководства по уходу и использованию лабораторных животных (восьмое издание, Вашингтон, США);

-Хельсинкской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации.

Методы исследования. Ретроспективное исследование пациентов с рецессией (25-64 года) проводилось на данных 1570 медицинских карт больных с заболеваниями пародонта в клинике Витадент г. Уфы, в период с 2017 по 2022 год.

Оценивали заполняемость документации при лечении пациентов с рецессией, считали удельный вес, ошибки и осложнения при лечении пациентов с данной патологией.

Комплексное стоматологическое обследование проводилось на 123 пациентах и включало: опрос, осмотр полости рта пациента. Выявление жалоб пациента, анамнеза жизни, развития заболевания. Заполнялись данные о возрасте больного, профессии, профессиональных вредностей, о ранее проведенных лечебных мероприятиях, наличии вредных привычек. Разработаны и применены специальные карты - опросники, которые

включали данные о проведении личной гигиены полости рта, данные структуре зубов, заболеваниях пародонта и т.д. Наличие, тип и класс десневой рецессии определяли по классификации Миллера (Muller P.D., 1985). Высоту рецессии измеряли как расстояние от цементно-эмалевой границы до апикальной вершины рецессии десны. Ширину рецессии определяли как расстояние между дистальным и медиальным краями десны на уровне цементно-эмалевой границы. Ширину зоны КПД определяли по центральной оси зуба от апикальной вершины рецессии десны до мукогингивальной границы. Определение ширины зоны КПД, апикальнее рецессии десны с помощью пародонтологического зонда

На экспериментальном этапе животным проводили фотометрию, ультразвуковое исследование десны, а также гистоморфологическое исследование КД. Для фотографирования участков рецессии десны использовали фотоаппарат «Canon» с приближением 1:1 ежемесячно на протяжении 9-ти месяцев. Фотометрия исследуемых участков десны проводилась с использованием мерной сетки, которая накладывалась поверх полученного изображения.

Фрагменты нижней челюсти с альвеолярными лунками и зубами крыс фиксировались в 10% забуференном нейтральном формалине с последующей декальцинацией. На следующем этапе после полного удаления из костной ткани минерального компонента выполняли стандартную гистологическую проводку по спиртам возрастающих концентраций. После чего препараты заключали в парафин и изготавливали срезы толщиной 4 микрона, окрашивали гематоксилином – эозином. Готовые стекло-препараты были отсканированы и изучались под различным увеличением с помощью программы CaseViewer – 3DHISTECH Ltd.

Толщину КД исследовали на ультразвуковом аппарате SonoScape S 20 Exp, Китай (Рег. удостоверение №ФСЗ 212/11830 от 02.10.2017г.) с датчиком конвексного низкочастотного, высокой плотности, ультразвукового. Датчик располагали в области преддверия полости рта, на расстоянии 1,5 мм от края свободной десны, перпендикулярно центральному оси зуба. Данные регистрировались в мм.

Методика моделирования рецессии десны у экспериментальных животных

Крысам породы Вистар проводили предоперационную подготовку в течение 12 часов до операции моделирования рецессии десны. При операциях на животных применяли ингаляционный эфирный наркоз. Сначала в области резцов нижней челюсти крысы проводили механическое иссечение тканей пародонта V-образной формы с вестибулярной поверхности. Затем животным накладывали ретракционную нить DispodentPak №000 в области нижних центральных резцов в круговой связке зуба на глубину 1,5 мм, таким образом, искусственно создавали дефект десны (Рисунок 1). Для фиксации и удерживания ретракционной нити в круговой связке зуба накладывали стоматологический стеклоиномерный цемент Vitrebond на вестибулярную поверхность шейки зуба нижних резцов. Во время эксперимента животные получали кашицеобразную высокоуглеродистую пищу. Для торможения процессов собственной регенерации животным вводили в/м преднизолон из расчета 12 мг/кг массы животного на 1-е, 3-е и 5-е сутки эксперимента. Предлагаемым способом была получена экспериментальная модель рецессии десны у 35 крыс линии Вистар (Патент РФ «Способ моделирования рецессии десны» № 2791563 от 10.03.2023 г., бл. № 7).



Рисунок 1 - Процесс моделирования рецессии десны у крыс.

Культивирование мультипотентных стволовых клеток в лабораторных условиях

Жировую ткань в объеме около 1 см³ получали из участка брюшины крысы. Немедленно после извлечения жировая ткань переносилась в центрифужную пробирку с 10 мл раствора фосфатно-солевого буфера (ФСБ) без Ca²⁺/Mg²⁺ (Панэко, Россия), содержащем 0,01 мг/мл гентамицина (Панэко, Россия).



Рисунок 2 - Забор жировой ткани у крысы.

Полученную жировую ткань в предварительно подготовленном растворе ФСБ центрифугировали 4 минуты при 2500 оборотах/мин. на центрифуге LMC-4200, R Biosan, Латвия. Удаляли масляную плёнку. Жир переносили в чашку Петри с 0,5 мл ФСБ. Всю полученную клеточную массу центрифугировали 4 минуты при 2500 оборотах/мин. на центрифуге LMC-4200. Удаляли все фазы кроме осадка. Осадок ресуспендировали в 1 мл аммонийного буфера, после чего доливали аммонийный буфер до 5 мл. Подсчет клеток производили на автоматическом счетчике клеток TC 20 BIO RAD, США. После окончания наращивания клеток их снимали с поверхности с помощью раствора трипсина 0,05% (Панэко, Россия) и посчитывали на автоматическом счетчике клеток TC20. Промывали в растворе ФСБ, центрифугировали суспензию 4 минуты при 1200 оборотах/мин. 3 мин. Разбавляли клетки раствором ФСБ до концентрации 1x10⁶ клеток/мл. Суспензию клеток смешивали с суспензией Аллопланта акупунктурного в 0,9% NaCl в соотношении 1:1. Концентрацию клеток вычисляли на автоматическом счетчике клеток TC 20 BIO RAD. Для этого 10 мкл суспензии клеток смешивали с 10 мкл красителя трипанового синего 0,04%, 10 мкл вносили в лунку слайда и помещали в автоматический счетчик (Рисунок 2).

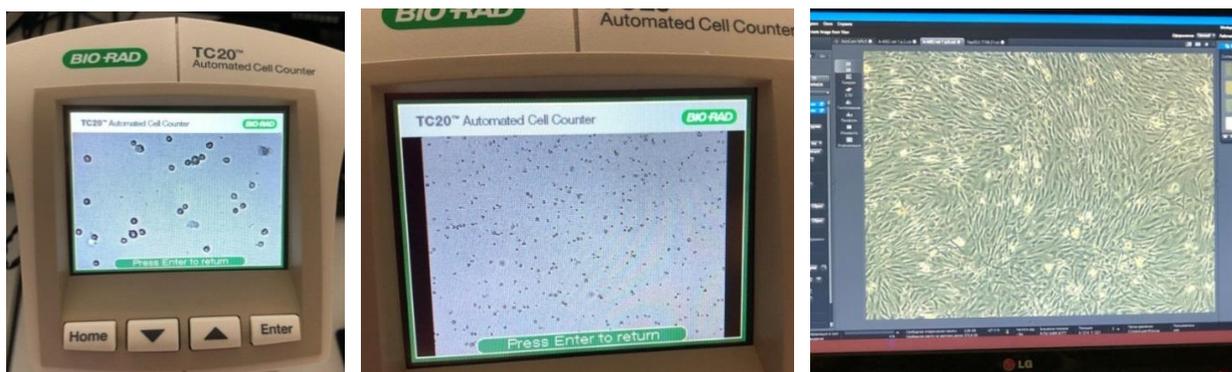


Рисунок 3 - Автоматический счетчик клеток TC 20 BIO RAD. Монослой ММСК, 14 сутки, x100. Микроскоп Carl Zeiss Axio Observer D1 с помощью камеры AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Германия).

Рост ММСК крысы изучали на микрофотографиях, полученных на микроскопе Carl Zeiss Axio Observer D1 с помощью камеры AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении окуляра x10 и объектива x10 (Рисунок 3).

Статистическую обработку проводили с помощью компьютерной программы «Statistics for Windows» (Copyright©Stat Soft, Inc., 1993).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате ретроспективного анализа медицинской документации 1570 пациентов с заболеваниями пародонта в клинике Витадент г. Уфы, в период с 2017 по 2022 год, по возрастным группам получили следующие данные: 25-34 года - 117 (7,45 %), первичных - 56 (47,8 %); 35-44 года - 315 (20,0 %), первичных - 181 (57,4 %); 45-54 года - 518 (32,9 %), первичные - 240 (46,3 %); 55-64 года - 620 (39,4 %), первичные - 315 (50,8 %) (Рисунок 4).

Удельный вес пациентов с рецессией десны составил - 917 чел. (58,4±0,23%). Гингивиты составили - 97 человек (6,17±0,23%), пародонтиты - 1233 человека (78,5±0,23%), пародонтозы - 223 человека (14,2±0,23%), другие заболевания пародонта - 17 человек (1,08%).

Пародонтит легкой степени тяжести - 512 человек (32,6±0,27%), пародонтит средней степени тяжести - 523 человека (33,3±0,21%), пародонтит тяжелой степени тяжести 215 человек (13,7±0,17%).

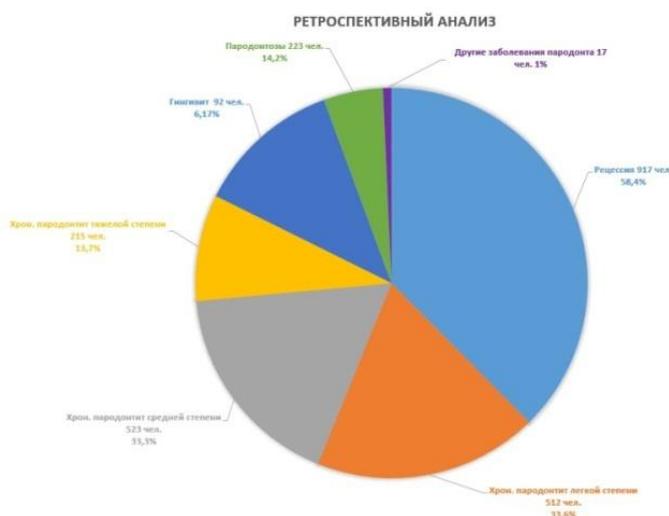


Рисунок 4 - Ретроспективный анализ.

Всего с рецессией было принято за пять лет 917 пациентов, среди них I класс по Миллеру — 423 (46,1 %); II класс — 245 (26,7 %); III класс — 157 (17,1 %), IV класс - 92 (10,0%).

Первичных пациентов с рецессией десны — 798 человек, что составляет 87,0 %.

Локальная рецессия определялась у 339 пациентов (37%), генерализованная форма выявлена у 577 пациентов (63%) (Рисунок 5).

Изучались так же причины развития десневых рецессий. Среди наиболее частых причин преобладали окклюзионные нарушения (суперконтакты) 427 (27,2%), ортодонтические конструкции 357 (22,7%), заболевания пародонта 223 (14,3%), не рациональное протезирование 119 (7,5%), не правильная постановка пломб 258 (16,5%), вредные привычки 115 (7,3%), другие причины 71 (4,5%).

Определялись осложнения после лечения рецессий: - переход I класса в II класс — 17 % случаев; I класса в III класс по Миллеру - 18,2%; рецидив заболевания - у 53% (в течение года); некроз тканей десны - в 55% случаев, отторжение трансплантата у 63% пациентов, заболевания ВНЧС при рецессии - 12,7%; деформации окклюзии при рецессии - 21,5 %. Стабилизация при рецессии 1-го класса наступала у 43 % пациентов, 2-го класса - у 21,5 % и 3-го класса - у 7,5 %.

Ретроспективный анализ результатов диагностики и лечения пациентов с диагнозом «рецессия» в клинике ВитаДент г. Уфы показал высокий до 85,1±0,05% удельный вес пациентов с рецессией десны.

На клиническом этапе научного исследования проведено комплексное обследование и лечение 123 пациентов с диагнозом рецессия десны (МКБ -10 К 06.0) II класс по Миллеру, в период с 2020-2023 гг.

В обследовании и лечении приняли участие 78 женщин (63,4%) и 45 мужчин (36,5%) в возрасте от 25 до 64 лет.

Целью клинического исследования и лечения являлось восстановление зоны прикрепленной кератинизированной десны до цементно-эмалевого соединения в области имеющих десневых рецессий II класса по Миллеру у пациентов.

Всем обратившимся пациентам было проведено комплексное стоматологическое обследование, которое включало диагностику и обследование по специально разработанной карте-опроснику - сбор анамнестических данных, специальное анкетирование, клиническое исследование тканей пародонта. Информированные согласия подписывались. Наблюдение во всех группах проводили в одно и то же время и в определенный период. Разработанная карта опросник, позволила выяснить наличие основных жалоб, и первоначальные причины развития заболевания.

Пациенты предъявляли жалобы на чувствительность зубов в области рецессии в 88,6% случаев, (109 человек). Эстетическую неудовлетворенность (93 пациента), 75,6±2,1 и отечность десны в 17,8% случаев (22 человека), (Рисунок 6).



Рисунок 5 - Пациент И., 45 лет с генерализованной рецессией. Измерение вертикального и горизонтального размеров рецессии градуированным зондом.

Также пациенты предъявляли жалобы на зубные отложения в $46,3 \pm 2,1\%$ случаев, и стираемость зубов в $43,0 \pm 2,3\%$. У $53,3\%$ выявлены аномалии прикуса, включающие: аномалии окклюзии зубов во фронтальном отделе, в боковых; аномалии положения зубов - 52 человека.

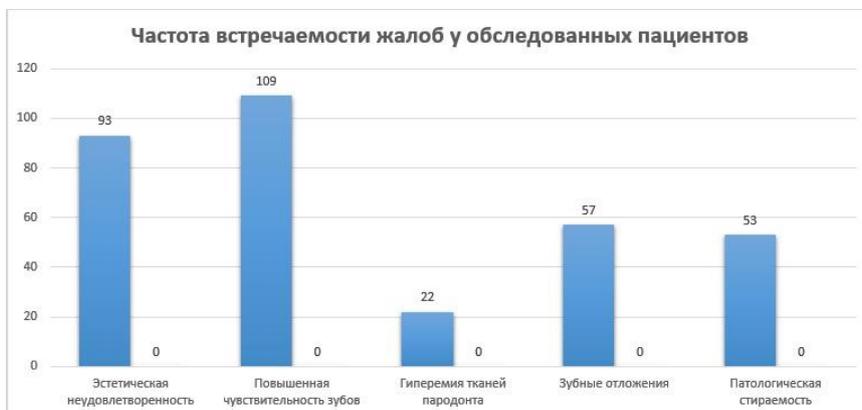


Рисунок 6 - Частота встречаемости жалоб.

Индекс кровоточивости РВІ показал средние значения – $1,35 \pm 0,12$. Зондирование зубодесневой борозды показало, что степень кровоточивости соответствовала не значительным точечным кровотечениям по маргинальному краю сосочков десны.

Высота рецессии до лечения по усредненным показателям была $3,78 \pm 1,3^*$ мм, ширина рецессий $5,63 \pm 0,7^*$ мм, что выше показателей нормы. В здоровом пародонте показателями высоты и ширины имеют нулевые значения.

Уменьшение клинического прикрепления равнозначно сумме данных высоты рецессии и глубины зондирования, у наших пациентов с рецессией десны показатели составили $5,47 \pm 0,10^*$ мм, что было достоверно выше нормы ($p < 0,001$). Снижение клинического прикрепления без рецессии соответствовали данным глубины зондирования зубодесневой борозды - $2,36 \pm 0,4$ мм.

Данные ШКД наших пациентов составили $3,75 \pm 0,32^{**}$ мм., что ниже ($p < 0,001$) нормальных значений, где ширина зоны кератинизированной десны составляет $4,31 \pm 0,75$ мм.

При сопоставлении показателей высоты и ширины десневых сосочков больных с рецессией в сравнении с нормальными показателями, не выявлено достоверных различий ($p = 0,23$, $p = 0,53$).

По итогу, можно сказать, что в среднем высота рецессий была $3,78 \pm 1,3^*$ мм, ширина рецессий $5,63 \pm 0,7^*$ мм. Локализация рецессии была в пределах прикрепленных тканей. ШКД апикальное рецессий и была $3,75 \pm 0,32^{**}$ мм. Ткани пародонта в области десневых сосочков соответствовали норме, уменьшение ширины и высоты сосочков отсутствовала. Соответствовала норме и глубина зондирования.

Лечение рецессии у пациентов методом коронально-смещенного лоскута

Лечение 123 пациентов включало в себя стандартную терапию: профессиональная гигиена полости рта, применение методики лечения рецессии коронально-смещенным лоскутом и аппликации фитоэкстракта.

При лечении пациентов с рецессией мы применяли методику коронально смещенного лоскута. Забор соединительнотканного трансплантата осуществляли с неба. Для того, чтобы извлечь соединительнотканый трансплантат, выполняли два горизонтальных надреза (параллельно), образуя таким образом клин соединительной ткани. С полученного трансплантата удаляли эпителий. Лоскуты в донорском участке ушивали.

После операции со 2-х суток накладывали в виде аппликации фитоэкстракт на 15 минут. Для достижения наилучшего заживления и регенерации десны, курсом 10 процедур (Рисунок 7).

В зависимости от проводимого лечения пациентов разделили на основную группу (ОГ), у которых применяли разработанное нами лечение и группу сравнения (ГС), которым проводили стандартную терапию.

Основной группе (ОГ, n=68) проводили профессиональную гигиену полости рта, операцию коронально - смещенный лоскут и дополнительно назначали аппликации фитоэкстракта.

Группе сравнения (ГС, n=55) проводили только профессиональную гигиену полости рта и оперативное лечение коронально-смещенным лоскутом.

В базовую терапию входила профессиональная гигиена полости рта и полоскание рта антисептиком «хлоргексидин».

Фитоэкстракт 100% органический фитоконцентрат. Состав: масляный экстракт брокколи, масляный экстракт листьев и семян катрана приморского, масляный экстракт листьев вайды красильной первого года, масляный экстракт листьев и семян катрана испанского, масляный экстракт семян крамбе САНМО, хлорофилл, тимохинон. Обладает противовоспалительным, антиоксидантным, нейропротекторным действием (Рег. номер. АМ.01.01.01.003.Р.000803.11.23).

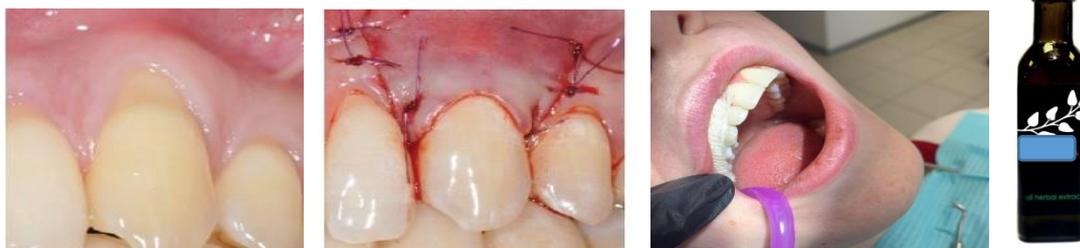


Рисунок 7 - Процесс проведения операции методом коронально-смещенного лоскута и аппликаций фитоэкстракта в послеоперационном периоде.

Для определения эффективности лечения рецессии применялись методы клинического исследования: изучение длительности хирургического лечения, клинических параметров в послеоперационном периоде (болевой синдром, отек мягких тканей, состоятельность швов). После хирургического лечения пациентов основной группы методом коронально-смещенного лоскута и аппликациями фитоэкстракта показатели высоты рецессии на 4 сутки были достоверно ниже исходного уровня ($p < 0,003$). Глубина зондирования была в пределах исходных данных ($p > 0,001$).

Через один и три месяца результаты сохранялись.

При изучении показателей потери КП после хирургического лечения, полученные результаты на четвертые сутки, через 1 - 3 месяца послеоперационного периода достоверно ниже показателей до лечения ($p < 0,001$).

Проведенное зондирование зубодесневой борозды у пациентов в области рецессии десны до лечения показало, что индекс РВІ составлял $1,35 \pm 0,12$ баллов, после лечения значения индекса РВІ были достоверно ниже первоначальных значений ($p < 0,001$), кровоточивость при зондировании в несущественной степени была у некоторых пациентов на 7 день после проведенной операции $0,7 \pm 0,15$ баллов, уже через 1 месяц индекс РВІ достигал $0,2 \pm 0,17$ баллов, а к 3-му месяцу приравнивался к нулю ($p < 0,001$).

При прослеживании гиперчувствительности зубов по шкале Шиффа, до проводимого лечения индекс SAI достигал значений $2,3 \pm 0,15$ баллов.

Пациенты регистрировали сильную болевую реакцию на термические раздражители.

После проведенного лечения показатели индекса были значительно ниже на двадцатые сутки $0,3 \pm 0,11$ баллов. Гиперчувствительность полностью ушла через один месяц после терапии.

При изучении полученных результатов выявили, что процент эффективности устранения рецессии десны методом коронально смещенного лоскута и аппликаций с фитоэкстрактом на двадцатые сутки составил $-73,7\%$, но затем снижался до $-71,3\%$, достигая значения $-68,5\%$ к 3 месяцу исследования. Это объясняется усадкой лоскута в течение 3 месяцев после лечения, что подтверждают данные о незначительном увеличении остаточной рецессии к третьему месяцу исследования.

Представленный метод является эффективным при лечении рецессий II класса по Миллеру, способствует более быстрой эпителизации, восстановления и регенерации послеоперационной раны, однако является травматичным и требует выполнения хирургического вмешательства на дополнительном операционном поле, с забором ткани с неба.

Данные выраженности болевой чувствительности были максимальными на 1-е сутки и достигали средних значений $-1,86 \pm 0,15$ баллов, что достоверно выше показателей на пятый и десятый день. Основная масса пациентов к пятому и десятому дням послеоперационного периода не диагностировали признаки болевого синдрома, говоря о полном их отсутствии.

Такие данные свидетельствуют, что включение аппликаций с фитоэкстрактом в послеоперационном периоде способствуют существенному улучшению протекания восстановления и регенерации десны, достоверно снижая процент осложнений, что отражается в регрессе проявлений воспаления, отечности, уменьшении болезненности в области раны.

У пациентов ГС в послеоперационном периоде процесс восстановления десны протекал медленнее, появлялись осложнения. Стomatит, воспаление, нагноение швов и выявляли фибринозный налет.

Отек мягких тканей в области проводимого оперативного вмешательства был сильный и достигал своих максимальных значений впервые и третьи сутки послеоперационного периода $1,78 \pm 0,11$ баллов, $1,89 \pm 0,23$ баллов соответственно. Состоятельность швов и выраженности фибринозного налета была низкой.

Показателей болевой чувствительности, отека мягких тканей и фибринозного налета достигали максимальных значений в течении первых трех суток, значительно снижая свои показатели к седьмым и 14 суткам.

После проведения процедур группе сравнения показатель индекса РВІ был достоверно ниже исходного уровня ($p < 0,001$).

Кровоточивость при зондировании зубодесневой борозды отмечалась у некоторых пациентов на третий день после проведения хирургического лечения $0,9 \pm 0,17$ баллов, уже через один месяц индекс РВІ достиг $-0,5 \pm 0,17$ баллов, а к третьему месяцу равнялся 0 ($p < 0,001$).

Пациенты более длительный период ощущали боль и чувствительность после операции. При оценке гиперчувствительности твердых тканей зуба по шкале Шиффа, пациенты замечали выраженную болевую реакцию на термические раздражители, после проведения лечения показатели индекса были значительно ниже только на тридцатый день $-0,7 \pm 0,15$ баллов. Гиперчувствительность полностью отсутствовала уже через полтора месяца после лечения.

Выявлено, что применение разработанного нами лечения, с дополнительным включением основной группе аппликаций фитоэкстракта в послеоперационном периоде, значительно ускоряет процесс заживления, регенерации и восстановления десны. А именно, послеоперационная рана у пациентов основной группы на фоне аппликаций фитоэкстракта затягивалась быстрее, не наблюдалась отечность, отсутствовали признаки воспаления, и в целом лоскут приживался лучше. Послеоперационный период протекал более спокойно и менее болезненно.

Применение фитоэкстракта с хлорофиллом в периоперационном периоде лечения рецессии десны показало высокую эффективность, оптимизируя репаративную регенерацию десны на 23,71%, но не снижает количество рецидивов.

Результаты полного анализа послеоперационного периода 123 пациентов показали, что в течение года были зарегистрированы рецидивы рецессии у 65 пациентов ($52,38 \pm 0,55\%$); кровотечения – у 30 пациентов ($24,3 \pm 0,82\%$); некроз тканей - у 33 пациентов ($26,8 \pm 0,15\%$); отторжение трансплантата - у 17 пациентов ($13,8 \pm 0,59\%$).

Травматичность применяемых технологий, рецидивы заболевания, большой перечень противопоказаний к операции, такие осложнения как некроз и отторжение трансплантата, привели нас к поиску новых методов лечения данной патологии.

РАЗРАБОТКА ЛЕЧЕБНОГО КОМПЛЕКСА И АНАЛИЗ ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТИ В ЛЕЧЕНИИ РЕЦЕССИИ ДЕСНЫ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Приготовление и введение лечебного состава из мезенхимальных стволовых клеток и бесклеточного матрикса в область рецессии десны на экспериментальной модели

Наше исследование проведено на 50 самках крыс (Вистар), возраст 1 год и весом до 150-200 г. Для эксперимента выбраны активные животные без видимых признаков заболевания. Лечение проводилось всегда в одно и то же время, утром, учитывая физиологические и биохимические процессы в организме.

Животным экспериментальной группы (ЭГ) в зоне смоделированных рецессий вводили инъекции состава из ММСК на бесклеточном матриксе, затем наносили фитоэкстракт по разработанной схеме.

В контрольную группу включили 15 животных со здоровой десной – для определения параметров нормы. Затем, после определения нормальных величин десневой ткани, им также смоделировали рецессию десны и включили их в эксперимент. У животных контрольной группы наблюдали и фиксировали собственную регенерацию.

Послеоперационный период наблюдения был 30 суток, потому что наиболее информативный при изучении гистологической картины репарации тканей. Отдаленный период наблюдения до 9 месяцев.

Количество экспериментальных животных соответствовало требованиям и рекомендациям по проведению экспериментальных исследований. Выводя животных из наркоза, фиксировали восстановление реакции на звуковые, световые и прочие раздражители. Состояние животных было удовлетворительное и соответствовало тяжести проведенного оперативного вмешательства.

Также наблюдали поведение, внешний вид, состояние шерстяного покрова, кожи и видимых слизистых оболочек животных, состояние тканей пародонта.

Полученные ММСК жировой ткани крысы смешивали с бесклеточным матриксом порошкообразным, который предварительно замачивали в растворе натрия хлорида 0,9%, в соотношении 1:1. (Патент РФ «Способ лечения рецессии десны с использованием мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток» № 2785189 от 05.12.2022 г., бл. №34) (Рисунок 8).

Бесклеточный матрикс (Аллоплант) - представляет собой биоматериал для регенеративной хирургии, который обладает предельно низкими антигенными свойствами, практически исключают иммунный характер реакции после его имплантации), (Рег. удостоверение ФСР 2011/12012 от 03.02.2015 г).

Фитоэкстракт 100% органический фитоэкстракт. Состав: масляный экстракт брокколи, масляный экстракт листьев и семян катрана приморского, масляный экстракт листьев вайды красильной первого года, масляный экстракт листьев и семян катрана испанского, масляный экстракт семян крамбе САНМО, хлорофилл, тимохинон. Фитоэкстракт разработан для антиоксидантной защиты организма, обладает нейропротекторным, противовоспалительным действием, применяется для восполнения физиологической потребности организма в минеральных веществах. Уникальность препарата в том, что все компоненты находятся в биологически активном и доступном виде, срок годности 5 лет в тёмном месте под плотно закрытой крышкой, за это время комплекс не меняет своих свойств.

Исследование проводили с разрешения Этического комитета ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (протокол от 16.12.2020). Анестезию и послеоперационную анальгезию выполняют в соответствии с международными стандартами. Все процедуры соответствуют требованиям Европейской конвенции по защите позвоночных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

Крысы жили в клетках. В основном питались зернами, овощами, крупяными кашами с добавлением молока и кисломолочных продуктов, соответствовали санитарно-гигиеническим нормативам для вивариев. Еду для крыс сохраняли в специально отведенном месте и не подвергали дополнительной контаминации, как при хранении, так и при раздаче животным. Воду пили из поилок, проточную, соответствующую требованиям СанПИН 10–124 РБ 99 к питьевой воде. Температура воздуха составляла 22—24° С, влажность воздуха — 40—45%.



Рисунок 8 - Процесс введения инъекции ММСК на бесклеточном матриксе в область маргинальной десны.

После введения животного в наркоз, проводили инъекцию лечебного состава. Одному лабораторному животному в слизистую десны в области резцов нижней челюсти проводили инъекции смеси в объеме 0,1 мл, в котором содержалось около 150 тысяч мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани. Инъекции вводили в 3-х точках (Рисунок 8). Затем на область рецессии десны накладывали в виде аппликации фитоэкстракт в количестве 0,1 мл на 20 минут. Курс лечения составлял 3 процедуры с интервалом в неделю. С использованием предлагаемого способа была пролечена группа экспериментальных животных, а именно крыс линии Вистар в количестве 35 особей от 1 года массой 150-200 г. с экспериментально моделированной рецессией десны.

У животных контрольной группы наблюдали собственную регенерацию, без применения лечения.

Фотометрия и клиническая оценка цвета, структуры тканей, полноты закрытия поверхности корня в области рецессии в послеоперационном периоде

После введения ММСК у животных отмечалось напряжение тканей десны и побледнение слизистой оболочки в месте инъекции, которое сохранялось 2-3 часа. Также, на десне виднелись следы от вколов, которые потом самостоятельно проходили в течение первых суток после процедуры.

На 4-е сутки после лечения у животных ЭГ животных состояние хорошее. Активность и состояние шерстного покрова в норме. Отечность сохранялась. Средняя глубина рецессии десны на 4 сутки эксперимента составила $2,14 \pm 0,15$ мм. На 7 день гиперемия незначительная, отечность сохранялась. Средняя глубина рецессии десны составила $1,8 \pm 1,5$ мм; провели повторение лечебной процедуры под эфирным наркозом. На 10 день гиперемия отсутствовала и отечность незначительная, дефект V образной формы сохранялся. Средняя глубина рецессии десны составила $1,5 \pm 1,2$ мм; на 14 день провели повторение лечебной процедуры под эфирным наркозом. На 17 день эксперимента: гиперемия и отечность отсутствовали, дефект V формы незначительно сохранялся. Средняя глубина рецессии десны составила $1,4 \pm 0,06$ мм. На 23 день эксперимента гиперемия и отечность отсутствовали, дефект V образной формы полностью восстановлен. Средняя глубина рецессии десны составила $1,1 \pm 0,04$ мм. Процесс восстановления десневой ткани шел быстрее, регенерация десны улучшалась.

По результатам наших наблюдений максимальный прирост мягких тканей был зафиксирован на 23 сутки и составил в среднем $1,3 \pm 0,45$ мм.

Через 1 месяц после проведения лечебных мероприятий слизистая оболочка бледно-розового цвета, умеренно увлажнена, дефект V-образной формы полностью восстановлен.

Таким образом, использование предлагаемого способа лечения показало хорошую регенерацию десны. V-образный дефект десны в зоне экспериментально смоделированной рецессии у крыс полностью восстановлен.

Наблюдения животных контрольной группы показали, что признаки рецессии десны сохранялись. Собственная регенерация протекала медленнее, десневой сосочек гиперемированный, отечный. В целом послеоперационный период протекал сложнее, наблюдались воспалительные реакции в зоне смоделированной рецессии. V-образный дефект десны в зоне экспериментально смоделированной рецессии не восстановлен.

Через 3 месяца: общее состояние животных хорошее. Активность, состояние шерстного покрова в норме. Налета и кровоточивости десны нет. Наблюдался одинаковый уровень десневого края, зубодесневой сосочек восстановленный. Значительного прироста тканей уже не наблюдалось, так как дефект был уже закрыт. В среднем значения прироста колебались от $0,23 \pm 0,37$ мм.

Через 6-9 месяцев: общее состояние животных хорошее. Активность, состояние шерстного покрова в норме. Налета и кровоточивости десны нет. Наблюдался одинаковый уровень десневого края, зубодесневой сосочек восстановленный. Десна розовая, плотная, края ровные. Наблюдается валикообразное утолщение по десневому краю в зоне инъекции.

Нанесение разработанного состава исследуемым животным сопровождалось полной регенерацией десневого желобка. Это подтверждает тот факт, что комплексное применение ММСК на бесклеточном матриксе совместно с фитоэкстрактом оказывает антиоксидантное, регенеративное, иммуномодулирующее, цитопротекторное средство. Бесклеточный матрикс является основой для интеграции ММСК, что улучшает эффективность лечения.

У животных, которые получали разработанное нами лечение за весь последующий период наблюдения (до 9 месяцев) десна была бледно-розовая и не отличалась от окружающих тканей. Признаков воспаления десны (гиперемии, кровоточивости) не отмечалось. Дефекта V-образной формы не наблюдалось.

Экспериментальные исследования продемонстрировали возможность полного восстановления зубодесневых сосочков и регенерацию тканей пародонта в области экспериментальной рецессии десны в течение первых 28 дней у животных. Регистрировалось отсутствие воспалительных явлений в группе (гиперемии, отека, кровоточивости десны), что подтверждало выраженное комплексное лечебное действие ММСК на бесклеточном матриксе и фитоэкстракта.

Курсовое применение разработанного нами лечения с использованием мезенхимальных стволовых клеток на бесклеточном матриксе и применением фитоэкстракта у животных способствовало улучшению состояния пародонта и закрытию дефекта рецессии десны.

Кроме визуальной оценки состояния тканей производили фотосъемку участков рецессий десны и открытых межзубных пространств до лечения и на протяжении всего периода исследования (при стандартном увеличении 1:1).

Сравнение изображений цифровых фотографий у животных показало, что, начиная со 1-й процедуры инъекции клеточных культур и до конца наблюдения, отмечено нарастающее со временем утолщение прикрепленной слизистой оболочки десны в местах инъекции ММСК на бесклеточном матриксе, увеличение высоты межзубных десневых сосочков (Рисунок 9). В последующий период наблюдения (до 9 месяцев) достигнутые изменения фенотипа десны сохранялись.



Рисунок 9 - Процесс восстановления и регенерации десны.

У животных с рецессией десны через 4 недели после инъекций смеси ММСК на бесклеточном матриксе отмечали одинаковый уровень десневого края у правого и левого резцов, восстановлен зубодесневой сосочек (Рисунок 10).

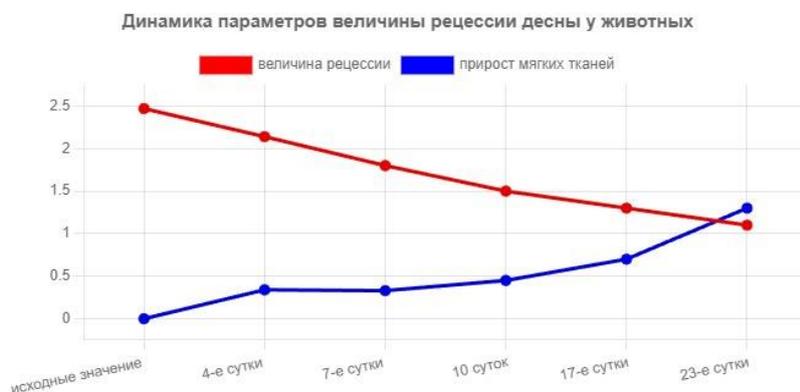


Рисунок 10 - Регресс рецессии десны у экспериментальных животных.

Десна розового цвета, плотная, с ровными краями на нижней челюсти, не кровоточит при зондировании. Также отмечается валикообразное утолщение по десневому краю в зоне инъекции.

У контрольной группы животных в процессе собственной регенерации происходило незначительное восстановление десневого сосочка. Процесс заживления шел медленнее и закрытие дефекта не наблюдалось.

Через 1 месяц после инъекций в группе животных степень обнажения корней зубов визуально практически не изменилась и составила $0,9 \pm 0,42$ мм по отношению к исходному значению. Через 2 месяца величина рецессии была $0,7 \pm 0,35$ мм. Через 3-9 месяцев значения в среднем колебались от $0,5 \pm 0,63$ – $0,3 \pm 0,53$ мм соответственно.

Это подтверждало тот факт, что проведенное нами лечение по устранению рецессии десны имеет пролонгированное действие. И в течение полугода наблюдений после операции не возникал рецидив заболевания (Таблица 1).

Таблица 1 - Динамика изменения рецессий десны в отдаленный период

Период наблюдения	Значение рецессии в мм.	Значение рецессии в мм.	Прирост мягких тканей	Прирост мягких тканей
	ЭГ (n=35)	КГ (n=15)	ЭГ (n=35)	КГ (n=15)
1 мес.	$0,9 \pm 0,42$	$2,12 \pm 0,03$	$0,21 \pm 0,16$	$0,09 \pm 0,23$
2 мес.	$0,7 \pm 0,35$	$2,1 \pm 0,01$	$0,25 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,3$
3 мес.	$0,5 \pm 0,63$	$2,0 \pm 0,04$	$0,23 \pm 0,37$	$0,1 \pm 0,25$
6 мес.	$0,3 \pm 0,45$	$1,97 \pm 0,05$	$0,23 \pm 0,19$	$0,23 \pm 0,15$
9 мес.	$0,3 \pm 0,53$	$1,8 \pm 0,03$	$0,21 \pm 0,17$	$0,17 \pm 0,13$

Примечание: степень достоверности $P < 0,001$

Результаты гистоморфологического исследования кератинизированной десны

По результатам гистоморфологии экспериментальной группы, в процессе восстановления десны обнаружено большое количество новообразованных сосудов, как процесс неангиогенеза (Рисунок 11 а). Строма представлена рыхлой соединительной тканью с разнонаправленными коллагеновыми волокнами, наличием фибробластов (Рисунок 11 б). При этом наблюдается процесс замещения жировой ткани, формированием коллагеновых волокон, рост сосудистой сети, что можно интерпретировать как процесс восстановления (Рисунок 11 в).

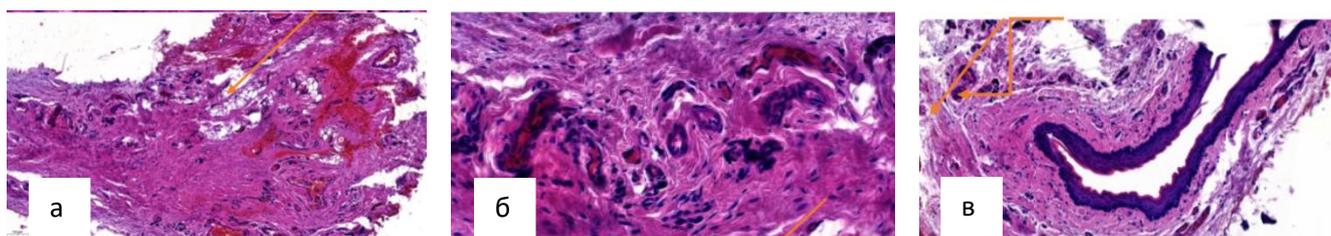


Рисунок 11 - Фрагмент десны с вновь образованными сосудам (стрелка) и в подлежащих тканях покровного многослойного эпителия. Б – детали рисунка А, мелкие и мельчайшие сосуды и наличием фибробластов в строме органа (стрелка), В – участок замещения жировой ткани с формированием коллагеновых волокон. Ув. $\times 20,400,100$, окр. Гематоксилин-эозин.

В гистологических препаратах группы обнаруживаются единичные лейкоциты и умеренное количество лимфоцитов. В целом воспалительно-клеточную инфильтрацию можно описать как средней степени выраженности. Подавляющее большинство клеточных элементов во всех полях зрения представлены фибробластами и фиброцитами. Их количество в среднем составляет $130,1 \pm 2,6$ клеток в поле зрения. Соединительная ткань незрелая, с хаотично расположенными волокнами. Данная ткань занимает большую часть полей зрения,

относительная площадь ее $75,1 \pm 2,4\%$. Вокруг зоны операции сформировано большое количество молодых тонкостенных кровеносных сосудов. Относительная площадь их сечения составляет в среднем $8,3 \pm 1,2\%$ (Таблица 2).

Таблица 2 – Гистоморфологическая картина десневой ткани на 28 сутки после лечения животных

Параметры	Период	КГ (n=15)	ЭГ (n=35)
Фибробласты, фиброциты	а	$89,7 \pm 1,3$	$130,1 \pm 2,6$
	б	$91,7 \pm 1,3$	$143,7 \pm 1,5$
	в	$99,7 \pm 1,3$	$157,2 \pm 2,1$
Объем ткани (%)	а	$53,2 \pm 1,3$	$75,1 \pm 2,4$
	б	$58,2 \pm 1,3$	$80,2 \pm 1,3$
	в	$61,2 \pm 1,3$	$91,3 \pm 1,7$
Площадь молодых тонкостенных кровеносных сосудов (%)	а	$6,8 \pm 1,6$	$8,3 \pm 1,2$
	б	$7,1 \pm 1,7$	$9,1 \pm 0,9$
	в	$7,8 \pm 1,3$	$9,7 \pm 1,1$

Примечание: а-на 28 сутки после курса лечения; б- через 1 месяц после лечения; в-через 3 месяца после лечения. Примечание: степень достоверности $P < 0,001$

Гистоморфометрическое исследование препаратов через 1 месяц показало, что во всех препаратах кальцинатов становится больше. У исследуемых животных клетки воспалительного ряда не обнаруживаются, воспалительных изменений не наблюдается. Количество клеток фибропластического ряда и относительная площадь рыхлой волокнистой соединительной ткани составляют соответственно $143,7 \pm 1,5$ клеток в поле зрения и $80,2 \pm 1,3\%$. При этом соединительная ткань становится более зрелой, хаотически расположенные коллагеновые и эластические волокна отсутствуют. Такие изменения говорят о продолжающемся развитии соединительной ткани в зоне операции. Постепенно уменьшается относительная площадь сечения молодых кровеносных сосудов, данный показатель составляет $9,1 \pm 0,9\%$ от общей площади тканей в препаратах (Таблица 2).

У животных контрольной группы существенных изменений в регенерации тканей выявлено не было. Процесс восстановления десневой ткани шел медленно.

Через 3 месяца от начала эксперимента относительная площадь микрососудов грануляционной ткани не измеряется, поскольку к этому сроку фактически грануляционная ткань переходит в более или менее зрелую форму и ее площадь прибавляется к площади соединительной ткани. В данных препаратах процесс регенерации выглядит наиболее завершенным. Количество клеток соединительной ткани составляет $157,2 \pm 2,1$ клеток в поле зрения, относительная площадь соединительной ткани $9,7 \pm 1,1\%$. Такое увеличение площади связано, в основном, с прибавлением площади сечения кровеносных сосудов. Об этом говорит менее значительное возрастание количества клеток, продуцирующих волокнистый и аморфный компонент соединительной ткани.

Оценка ультразвуковых параметров десны у экспериментальных животных

Ультразвуковое исследование крысам проводилось до и после лечения. Применение этого метода дало возможность не инвазивно получить изображение и измерение слизистой оболочки десны.

До лечения мы получили средние показатели толщины кератинизированной слизистой оболочки десны, на уровне резцов нижней челюсти. Толщина кератинизированных мягких тканей в среднем составила $2,83 \pm 0,53$ мм.

Данное исследование проводили у крыс с диагнозом K06.0 Рецессия десны (n=35) и у крыс контрольной группы (n=15).

Измерение ультразвуком толщины вестибулярной кератинизированной десны передней группы зубов у крыс с моделированной рецессией десны (ЭГ) продемонстрировало, что толщина десны в области передних зубов после лечения достоверно увеличилась, нежели толщина десны до лечения (Рисунок 12, 13).

Таблица 3 – Динамика данных толщины десны по данным ультразвукового исследования до и после лечения

Параметры	Норма	ЭГ (n=35)	КГ (n=15)
№ зуба	3.1	3.1	3.1
До лечения	2,83±0,53 мм	1,23±0,10	
Толщина десны, в мм. (через 1 месяц после лечения)		1,93±0,10	1,30±0,12
Толщина десны, в мм. (через 2 месяца после лечения)		2,35±0,17	1,35±0,11
Толщина десны, в мм. (через 3 месяц после лечения)		2,93±0,15	1,42±0,19

Примечание: степень достоверности $P < 0,001$

Увеличение толщины кератинизированной десны у животных ЭГ на 28 сутки составило $1,93 \pm 0,10$ мм. А через 2 и 3 месяца наблюдался наибольший прирост и составил от $2,35 \pm 0,17$ - $2,93 \pm 0,15$ мм соответственно. Несущественно ниже были показатели через 6 и 9 месяцев после лечения. Но достоверная разница данных показателей отсутствовала ($p > 0,001$). При статистической обработке различий с достоверностью ($p = 0,05$) было выявлено достоверное различие ($p = 0,7$, $p = 0,3$, $p = 0,9$).

Измерение ультразвуком толщины кератинизированной десны в области передних зубов с рецессией (Таблица 3), демонстрировало значительный прирост толщины десны, в сравнении с значениями до лечения.

Это доказывало то, что разработанный нами метод лечения рецессии десны с использованием мезенхимальных стволовых клеток на бесклеточном матриксе и применением фитоэкстракта эффективный и способствует значительному росту кератинизированной десны в послеоперационный период, который достигал максимальных значений к 3 месяцу наблюдений.

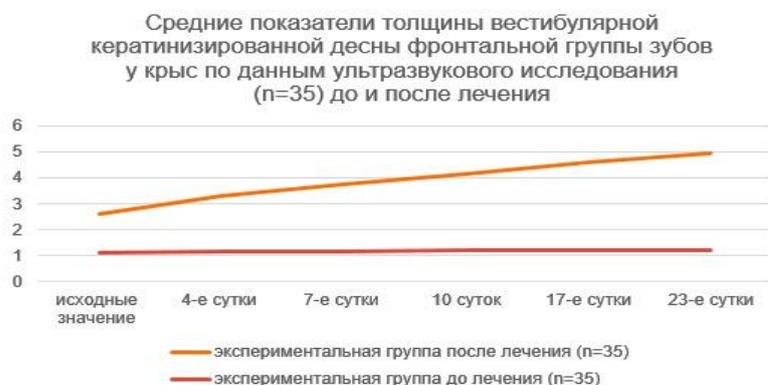


Рисунок 12 - Рост толщины кератинизированной десны.

Согласно полученным нами данным было выявлено, что средняя толщина кератинизированных тканей варьировала в зависимости от проведенной терапии. Значения толщины кератинизированной десны у животных КГ не показали достоверного прироста десневой ткани. Десневой сосочек в результате собственной регенерации незначительно восстанавливался, но полного закрытия дефекта не наблюдалось.

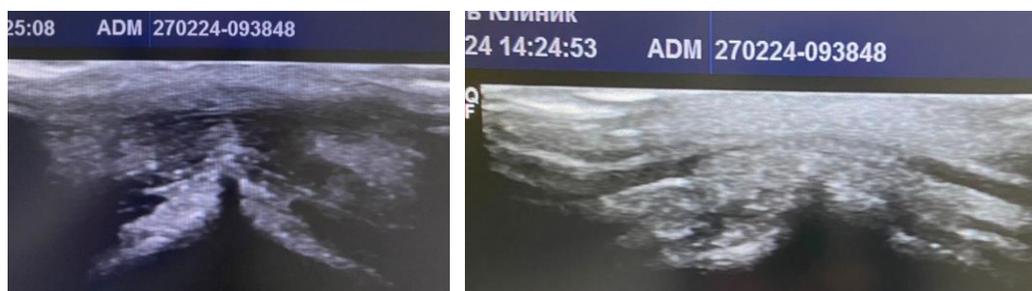


Рисунок 13 - Регистрация показателей толщины кератинизированных мягких тканей в области фронтальных зубов.

ВЫВОДЫ

1. Ретроспективный анализ позволил установить причины развития рецессии десны: окклюзионные нарушения ($67,3 \pm 0,17\%$), использование ортодонтических конструкций ($23,3 \pm 0,12\%$), другие причины составляют ($9,4 \pm 0,11\%$). Изучение отдаленных результатов лечения рецессии десны, демонстрирует большой процент рецидивов и осложнений.
2. Лечение рецессии десны методом коронально-смещенного лоскута позволило выявить ряд осложнений: в $27,3 \pm 0,17\%$ случаев происходит некроз тканей, в $14,2 \pm 0,15\%$ отторжение трансплантата, в $25,7 \pm 0,03\%$ - кровотечение и в $53,0 \pm 0,05\%$ случаев возникает рецидив заболевания.
3. Применение фитοэкстракта с хлорофиллом в периоперационном периоде лечения рецессии десны показало высокую эффективность, оптимизируя репаративную регенерацию десны на $23,71\%$, но не снижает количество рецидивов.
4. Разработанная оригинальная экспериментальная модель у животных, позволила создать адекватную клиническую картину рецессии, включающую в себя дефект мягких тканей слизистой оболочки десны с обнажением корня зуба и не имеющую тенденцию к спонтанному заживлению.
5. Изучение непосредственных и отдаленных результатов оригинальной схемы лечения рецессии десны на основе комплексного применения мезенхимальных стволовых клеток, бесклеточного матрикса и аппликаций с фитοэкстрактом, позволило установить высокую эффективность, минимизировать процент осложнений и получить стойкий лечебный эффект в отдаленном периоде. На 23 сутки произошел максимальный прирост мягких тканей до $1,3 \pm 0,45$ мм., к 30-м суткам наблюдалось полное закрытие рецессии десны. Результаты гистоморфологии показали, что в процессе восстановления десны обнаружено большое количество новообразованных сосудов, что характеризует процесс неоангиогенеза и увеличение площади соединительной ткани до $85,7 \pm 2,4\%$. Ультразвуковое исследование показало прирост толщины кератинизированной десны к 28 суткам на $1,93 \pm 0,10$ мм.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Консервативное и хирургическое лечение рецессии десны по принятым технологиям не позволяет уменьшить количество осложнений и рецидивов более чем на $52,38\%$.

2. Комплексное применение мезенхимальных стволовых клеток, бесклеточного матрикса и фитоэкстракта позволяет улучшить непосредственные и отдаленные результаты на экспериментальной модели.
3. Применение мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток, бесклеточного матрикса и фитоэкстракта обеспечивает оптимальную репаративную регенерацию со стойким отдаленным эффектом.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ

1. Концепция получения и использования мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток при лечении стоматологических заболеваний: обзор литературы / Н.В. Лопатина, Г.А. Валеева, Р.Р. Хайбуллина [и др.] // **Эндодонтия Today**. - 2021. – Т. 19, № 2. - С. 107-111.
2. Лечение рецессии десны препаратом стимулятором регенерации / Н.В. Лопатина, Р.Р. Хайбуллина, К.В. Данилко [и др.] // **Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия Естественные и технические науки**. – 2022. - № 6, ч. 2. - С. 195-200.
3. Разработка модели рецессии десны в эксперименте / Н.В. Лопатина, Р.Р. Хайбуллина, К.В. Данилко [и др.] // **Эндодонтия Today**. – 2022. – Т. 20, № 4. - С. 323-327.
4. Лечение рецессии десны с использованием масла Sans Mots / Н.В. Лопатина, Р.Р. Хайбуллина, К.В. Данилко [и др.] // **Российский стоматологический журнал**. – 2022. – Т. 26, № 6. - С. 481-485.
5. Лопатина, Н.В. Гистоморфологическое исследование рецессии десны в эксперименте / Н.В. Лопатина // **Кафедра**. – 2023. – № 84. – С. 26-28.
6. Лечение рецессии десны методом коронально-смещенного лоскута и аппликации фитоэкстракта/ Н.В. Лопатина, Р.Р. Хайбуллина, Л.П. Герасимова [и др.] // **Российский стоматологический журнал**. – 2024. – Т. 28, № 1. - С. 81-87.
7. Ретроспективный анализ заболеваемости хроническим пародонтитом и рецессией десны у пациентов стоматологической клиники города Уфа / Н.В. Лопатина, Р.Р. Хайбуллина, Г.А. Валеева [и др.] // **Российский стоматологический журнал**. – 2024. – Т. 28, № 2. - С. 223-228.

Патенты РФ

1. Способ лечения рецессии десны с использованием мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток: пат. № 2785189 от 05.12.2022 / Хайбуллина Р.Р., Данилко К.В., Шангина О.Р., Лопатина Н.В., Валеева Г.А., Галиахметова И.А., Герасимова Л.П., Кабирова М.Ф. – Бюл. № 34.
2. Способ моделирования рецессии десны: пат. № 2791563 от 10.03.2023 / Хайбуллина Р.Р., Данилко К.В., Лопатина Н.В., Герасимова Л.П. – Бюл. № 7.
3. Способ лечения рецессии десны с использованием масла Sans Mots: пат. № 2787679 от 11.01.2023 / Хайбуллина Р.Р., Данилко К.В., Лопатина Н.В., Галиахметова И.А., Герасимова Л.П., Кабирова М.Ф. – Бюл. № 2.

Работы, опубликованные в других изданиях

1. Мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки при лечении стоматологических заболеваний (обзор литературы) / Н.В. Лопатина, Г.А. Валеева, Р.Р. Хайбуллина [и др.] // Актуальные вопросы стоматологии: сборник материалов XI Приволжского стоматологического форума, 28-29 октября 2021 г. – Уфа, 2021. - С. 29-35.
2. Особенности выделения, роста и размножения мультипотентных стволовых клеток / Р.Р. Хайбуллина, Г.А. Валеева, Н.В. Лопатина, К.В. Данилко [и др.] // Актуальные вопросы

стоматологии: сборник материалов XI Приволжского стоматологического форума, 28-29 октября 2021 г. – Уфа, 2021. - С. 521-525.

3. Применение мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток при лечении рецессии десны и хронического пародонтита / Р.Р. Хайбуллина, Г.А. Валеева, Н.В. Лопатина [и др.] // Стоматология Республики Башкортостан: сборник научных трудов. — Уфа: ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, 2022. - С. 140-146.

4. Применение мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток при лечении стоматологических заболеваний / Р.Р. Хайбуллина, Г.А. Валеева, Н.В. Лопатина [и др.] // Инновационная медицина. – 2021. – Т. 1, № 5. - С. 151.

5. Гистология десны при рецессии в эксперименте / Р.Р. Хайбуллина, Н.В. Лопатина, Л.П. Герасимова [и др.] // Актуальные проблемы стоматологии и челюстно-лицевой хирургии: сборник Международного конгресса стоматологов, 16 мая 2023 г., Ташкент. – Ташкент, 2023. - С. 545-549.

6. Лопатина, Н.В. Гистоморфологическое исследование рецессии десны в эксперименте / Н.В. Лопатина // Главврач. – 2023. - № 3. – С. 37-43.

7. Гнатологические аспекты диагностики и лечения рецессии десны / Н.В. Лопатина, Л.П. Герасимова, Р.Р. Фархшатова [и др.] // Стоматология Республики Башкортостан: сборник научных трудов. — Уфа: ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, 2022. – С. 101-108.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ММСК - мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки

МСК - мультипотентные стволовые клетки

СК - стволовые клетки

ЭГ – экспериментальная группа

КГ - контрольная группа

УКП – уменьшение клинического прикрепления

КД – кератинизированная десна

КП – клиническое прикрепление

БАВ – биологические активные вещества

ВЗПР-воспалительные заболевания полости рта

ВНЧС – височно-нижнечелюстной сустав

ЗЧС – зубочелюстная система

ФСБ – фосфатный буфер

ЧЛО – челюстно-лицевая область

ЧМТ – черепно-мозговая травма

ЧЛХ – челюстно-лицевая хирургия

ШКД- ширина кератинизированной десны

Лопатина Наталья Викторовна

**Клинико-экспериментальное обоснование лечения рецессии десны
с использованием мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано к печати
Отпечатано на цифровом оборудовании
с готового оригинал-макета, представленного автором.
Формат 60x84 ¹/₁₆. Усл.-печ. л. 1,4.
Тираж 100 экз. Заказ № 38.

450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3.
Тел.: (347)272-86-31, e-mail: izdat@bashgmu.ru
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России