

На правах рукописи

БАЛЕЕВА ГУЛЬНАРА АХМЕТОВНА

**КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ СТВОЛОВЫХ
КЛЕТОК НА МАТРИКСЕ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННОЙ КОСТИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
ДЕСТРУКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПАРОДОНТЕ**

3.1.7. Стоматология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Уфа - 2024

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

Научный руководитель:

Хайбуллина Расима Рашитовна - доктор медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты:

Мандра Юлия Владимировна - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, директор института стоматологии, профессор кафедры терапевтической стоматологии и пропедевтики стоматологических заболеваний

Успенская Ольга Александровна - доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой терапевтической стоматологии

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится: «__» _____ 2024 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](http://www.bashgmu.ru).

Автореферат разослан «__» _____ 2024 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Валеев Марат Мазгарович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

В настоящее время одной из актуальных проблем в стоматологии являются воспалительные заболевания пародонта. Они являются очень распространенными среди населения, и в то же время оказывают неблагоприятное воздействие на все системы и органы человека. В частности, из-за воспалительных заболеваний пародонта в организме человека возникают патологические изменения, которые приводят к повышению рисков развития сердечно-сосудистых заболеваний, инсультов, неблагоприятного протекания беременности, сахарного диабета и других заболеваний (Успенская О.А., Качесова Е.С., 2017; Успенская О.А. и др., 2019; Успенская О.А. и др., 2020).

Среди воспалительно-дистрофических процессов полости рта, которые обусловлены влиянием различных патологических факторов, одним из наиболее распространенных является хронический генерализованный пародонтит (Мандра Ю.В. и др., 2021).

Значительную роль в этиологии и патогенезе пародонтита играют местные факторы: условно-патогенная и специфическая пародонтопатогенная микрофлора зубной бляшки, которая активизируется на фоне изменения состояния местного иммунитета полости рта (Булгакова А.И. др., 2023).

В Республике Башкортостан среди наиболее значимых стоматологических проблем заболевания пародонта занимают второе место по распространённости, сразу вслед за кариесом (Герасимова Л.П. и др., 2020).

Воспалительно-деструктивные изменения (пародонтит) является главной причиной потери зубов. Это и вызывает значительное внимание исследователей к вопросам патогенеза, диагностики и лечения данного заболевания (Чуйкин С.В. и др., 2023).

Согласно современным стандартам, лечение заболеваний пародонта должно быть комплексным и максимально индивидуализированным (Аверьянов С.В. и др., 2021). Дифференцированный подход обусловлен вариабельностью этиологии и патогенеза заболевания у каждого конкретного пациента, разной степенью выраженности воспалительных, деструктивных и дистрофических изменений в тканях. Таким образом, для каждого больного составляется персональный план комплексной терапии, включающий местные лечебные мероприятия и общее воздействие на организм (Акмалова Г.М. и др., 2023).

Долгосрочный эффект классических методов лечения, включая механическое удаление бактериального налета, недостаточно эффективен. Поэтому возникает необходимость искать другие альтернативы лекарственных препаратов и подходов лечения (Мирсаева Ф.З. и др., 2020).

Отсюда следует, что поиск новых путей повышения эффективности лечения воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта, которые способствовали бы не только скорейшему наступлению клинического улучшения, но и сокращению количества рецидивов у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом, - одна из важных задач современной стоматологии.

Цель исследования: повышение эффективности комплексного лечения воспалительно-деструктивных изменений в альвеолярной кости при пародонтите.

Задачи исследования

1. Провести сравнительное ретроспективное исследование исходов лечения хронического пародонтита. Определить процент рецидивов и осложнений.
2. Оценить эффективность комплексного лечения пациентов с хроническим пародонтитом легкой и средней степени тяжести с использованием фитоэкстракта.
3. Разработать экспериментальную модель хронического пародонтита с деструкцией альвеолярной кости.
4. Разработать способ лечения воспалительно-деструктивных изменений в пародонте с дефектом альвеолярной кости с применением стволовых клеток на матриксе децеллюляризованной кости.
5. Изучить ближайшие и отдаленные результаты лечения деструктивных изменений в

пародонте при использовании матрикса децеллюляризованной кости и стволовых клеток на экспериментальной модели.

Научная новизна

Впервые проведено сравнительное ретроспективное исследование с определением исходов лечения хронического пародонтита, процента рецидивов и осложнений за период 2017-2022 гг. и получены новые данные.

Впервые разработана карта-опросник при обследовании пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом и внедрена в практику врача-стоматолога.

Впервые получены данные о применении фитоэкстракта при лечении хронического генерализованного пародонтита легкой и средней степени тяжести.

Впервые предложена экспериментальная модель хронического пародонтита. Дана развернутая гистоморфологическая оценка состояния тканей пародонта.

Впервые изучено действие комплекса стволовых клеток пульпы зуба человека на матриксе децеллюляризованной кости при деструкции альвеолярной кости в условиях экспериментального пародонтита. Доказана их эффективность при лечении деструкции костной ткани. Полученные данные дают широкие возможности для практического их применения.

Впервые получены данные о применении фитоэкстракта при лечении хронического пародонтита у крыс в эксперименте.

Впервые на основании сравнительного анализа предложена и научно обоснована методика комплексного лечения деструктивных изменений пародонта в эксперименте и доказана ее эффективность в отношении клинических, рентгенологических и гистоморфологических параметров.

Теоретическая и практическая значимость

Проведено сравнительное ретроспективное исследование с определением исходов лечения хронического пародонтита, процента рецидивов и осложнений.

Разработана карта-опросник при обследовании пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта, которая способствует совершенствованию ранней диагностики и лечения пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта.

Разработана экспериментальная модель пародонтита, сходная по патоморфологическим характеристикам с пародонтитом человека, имеющая легкую воспроизводимость, и может применяться при разработке новых методов лечения.

На основании проведенных гистоморфологических исследований установлены остеиндуктивные возможности стволовых клеток на матриксе децеллюляризованной кости в отношении тканей альвеолярной кости у экспериментальных животных.

Полученные результаты при применении разработанного способа лечения воспалительно-деструктивных процессов в пародонте с дефектом альвеолярной кости у экспериментальных животных с использованием стволовых клеток на матриксе децеллюляризованной кости, позволили теоретически обосновать предлагаемый способ лечения и показать необходимость применения терапии стволовыми клетками в комплексном лечении данного заболевания.

Результаты проведенного экспериментального исследования являются теоретической и практической основой для разработки в клинике новых методов лечения хронического генерализованного пародонтита.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Существующие в настоящее время методы консервативного и хирургического лечения деструкции альвеолярной кости при пародонтите не удовлетворяют пациентов и врачей, в связи с большим количеством рецидивов и осложнений.

2. На основании клинического исследования установлено, что метод лечения пародонтита с применением фитоэкстракта оказывает выраженное лечебное действие на мягкие ткани десны, уменьшая воспалительный процесс, но не воздействует на костную ткань альвеолярной кости.

3. Разработанный метод лечения на основе применения стволовых клеток на матриксе децеллюляризованной кости, показал свою эффективность при лечении воспалительно-

деструктивных изменений в альвеолярной кости, позволил получить стойкий лечебный результат и длительную ремиссию.

Степень достоверности и апробация результатов, личное участие автора

Достоверность полученных результатов, обоснованность выводов и рекомендаций базируется на достаточном объеме клинических и экспериментальных исследований. Исследования проводились в специализированных лабораторных условиях с использованием сертифицированного оборудования. Все измерительные приборы прошли калибровку в соответствии с требованиями государственных стандартов (ГОСТ), что гарантирует точность и надёжность полученных данных. Статистическая обработка данных выполнялась с использованием профессионального лицензионного программного пакета Statistica 10.0 (Stat Soft).

Личный вклад автора в исследование

При личном участии автора осуществлён всесторонний анализ имеющейся по теме исследования отечественной и зарубежной научной литературы. На основании проведённого анализа были поставлены цель и задачи исследования, определены его научная концепция, дизайн и план. Автор применил методику исследования, которая включала в себя последовательное диагностическое обследование пациентов с использованием клинических и рентгенологических методов исследования. В процессе обследования автор лично участвовал в сборе исходных данных, а также в последующей их обработке и интерпретации. Также при личном участии автора проведен экспериментальный этап исследования. В работе использовались современные методы математико-статистического анализа полученного в результате исследования материала. Результаты исследования озвучены на научно-практических конференциях и опубликованы в ведущих медицинских журналах.

Внедрение результатов работы

Результаты диссертационного исследования внедрены и используются в учебно-методической работе со студентами, ординаторами и аспирантами на кафедрах терапевтической и ортопедической стоматологии ФГБОУ ВО «Башкирского государственного медицинского университета» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Карта-опросник используется в работе врачей (стоматологов, терапевтов, пародонтологов, ортопедов, хирургов и ортодонтонтов) в ГБУЗ РБ Стоматологической поликлинике №5 г. Уфы, Клинической стоматологической поликлинике БГМУ, стоматологической клинике ООО «Дентиум» г. Уфа, ООО «Тэшдент» г. Уфа, ООО «Жемчужина» г. Уфа.

Апробация работы и публикации

Основные положения работы обсуждались на конференциях и конгрессах: «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» (г. Ташкент (Узбекистан), 2021), Форуме «Стоматология Республики Башкортостан» (Уфа, 2022), I Съезде стоматологов (Актобе (Казахстан), 2022), III Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы профилактики стоматологических заболеваний в детской стоматологии» (г. Ташкент (Узбекистан), 2022), III Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы профилактики стоматологических заболеваний в детской стоматологии» (г. Ташкент (Узбекистан), 2022), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные тенденции современной стоматологии» (г. Уфа, 2023).

Публикации

По теме диссертационного исследования опубликовано 13 печатных работ из них 7 в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, получено 3 патента РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 153 страницах компьютерного текста шрифтом Times New Roman 14 кегля и состоит из введения, 3 глав (обзор литературы; материалы и методы; результаты собственных исследований), заключения, выводов и практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы, приложения. В диссертации приведены ссылки на 215 литературных источников, включающих 95 работ отечественных и 120 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 47 рисунками и 7 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Условия, объем и методы исследований. Работа включала три этапа: сравнительный ретроспективный анализ, клиническое исследование и экспериментальная часть. Ретроспективный анализ проведен на медицинских картах пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта (ВЗП), получавших лечение в ГБУЗ РБ стоматологической поликлинике № 4 г. Уфы, в период с 2017–2022 гг. Оценивали заполняемость документации при лечении пациентов с заболеваниями пародонта, считали удельный вес ВЗП, распределение по полу и возрасту, формы пародонтита, способы лечения, исходы заболевания, осложнения и рецидивы при лечении пациентов с диагнозом хронический пародонтит (ХП).

Комплексное стоматологическое обследование и лечение проводилось на 120 пациентах с диагнозом хронический генерализованный пародонтит легкой и средней степени тяжести и включало: опрос, осмотр полости рта пациента, выявление жалоб, анамнеза жизни, развития заболевания, а также проведение стоматологических индексов и рентгенологического обследования. Контрольную группу составили 30 здоровых лиц, которые были обследованы для уточнения параметров нормы. Исследования проводились на клинических базах кафедр терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО БГМУ и в стоматологической клинике ООО «Дентиум» г. Уфы.

Экспериментальное исследование проводилось на 60 крысах породы Вистар. Контрольную группу составили 10 животных того же возраста, которые были обследованы для уточнения параметров нормы. Экспериментальные исследования проводились в центральной научно-исследовательской лаборатории, на кафедре терапевтической стоматологии, лаборатории клеточных культур, иммуно-гистохимической лаборатории ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, ветеринарной клиники доктора Кутлимова в г. Уфа в период с 2021 по 2023 гг. Обследование и динамическое наблюдение во всех группах проводилось в одинаковые сроки.

Критерии включения пациентов: возраст - от 35 до 45 лет; диагноз ХГП ЛС и ХГП СС тяжести; согласие пациента на участие в исследовании. Критерии исключения пациентов: наличие новообразований, прием лекарственных препаратов, влияющих на репаративные процессы в костной ткани; ХГП тяжелой степени тяжести; ХГП в стадии обострения; наличие съемных ортопедических конструкций; сахарный диабет 1 го или 2 го типа; выявленный остеопороз; профессиональная вредность; отягощенный аллергологический анамнез; беременность; отказ от участия в исследовании.

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. Для оценки распространенности воспалительных заболеваний пародонта нами проведен ретроспективный анализ 1500 медицинских карт пациентов, получавших лечение в стоматологической поликлинике № 4 г. Уфы за период 2017–2022 гг.

Перед началом исследования выясняли анамнез жизни, делали акцент на сопутствующие заболевания, вызывающие патологию в костной ткани альвеолярной кости и ткани пародонта. Учитывали давность развития заболевания, особенности течения хронического процесса, наследственный фактор, проводилось ли ранее лечение, а также профилактические мероприятия, давность их проведения и результаты. Особое внимание уделяли наличию над и поддесневых минерализованных зубных отложений, проводили проверку знания и навыков по уходу за полостью рта. Определяли аномалии строения и деформации зубочелюстной системы, травматическую окклюзию, патологическую стираемость, вид прикуса, состояние твердых тканей зубов (кариес и его осложнения), наличие зубов с пломбами и качество реставраций, отсутствующие зубы, определяли вид протезирования и его качество.

При осмотре тканей пародонта обращали внимание на форму и цвет десневого сосочка, десневого края, кровоточивость и длительность, наличие отека, гипертрофии, наличие пародонтальных карманов ПК, отделяемого из них, вид, характер экссудата и объем. При помощи пародонтального зонда производили осмотр области зубодесневого соединения. При пальпации оценивали болевые ощущения, характер, степень болезненности, припухлости дёсен, а также давность возникновения.

Для оптимизации оценки стоматологического статуса пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом была разработана подробная карта-опросник.

Для оценки характеристик тканей пародонта пациентов использовали индексы: гигиенический индекс Грина-Вермиллиона, пародонтальный индекс, индексная оценка степени кровоточивости десен, а также измерение глубины пародонтального кармана, определение подвижности зубов.

Оценку состояния костной ткани проводили с помощью рентгенографического исследования метод конусно-лучевой компьютерной томографии. Оценку результатов КЛКТ проведенного лечения пациентов с диагнозом ХГП ЛС и ХГП СС проводили до лечения через 6 и 12 месяцев.

На экспериментальном этапе животным проводили клиническую оценку, рентгенологическое и гистоморфологическое исследование. Для изучения пародонта у животных использовался набор стоматологических инструментов зеркало и пародонтологический зонд. Показатели оценки была кровоточивость десны, наличие и характер экссудата в зубодесневых карманах, патологическую подвижность резцов (ПЗ) нижней челюсти и глубина пародонтальных карманов (ПК). Результаты экспериментального обследования животных вносили в специально разработанные карты и вносили в компьютер, до начала лечебных мероприятий и после лечебных мероприятий.

Для гистоморфологического исследования из опыта выводили по 2 крысы на 18, 60 и 180 сутки, после проведенного лечения извлекая фрагменты нижней челюсти, именно костную ткань объемом 1 см. Фрагменты нижней челюсти с альвеолярными лунками зубами крыс фиксировались в 10% забуференном нейтральном формалине с последующей декальцинацией смесью Трилон Б. После полного удаления из костной ткани минерального компонента выполняли классическую гистологическую процедуру. После препараты вносили в парафин и изготавливали срезы толщиной не более 3,9 микрона, которые были окрашены гематоксилином-эозином. Готовые стеклопрепараты были отсканированы на Pannogamic 250 с последующим изучением гистологических срезов под различным увеличением с помощью программы CaseViewer – 3DHISTECHLtd.

Рентгенологическое исследование костной ткани альвеолярной кости у экспериментальных животных проводили на аппарате EcoRay ORANGE-1060HF (Корея, рег. удостоверение №ФС3 10923 от 27.10.2011). Рентгенологические исследования проводились до и после проведенной методики экспериментального моделирования пародонтита, после лечебных мероприятий через 18 дней, через 2 и 6 месяцев.

Методика моделирования хронического пародонтита у экспериментальных животных. Крысам породы Вистар под ингаляционным эфирным наркозом накладывали ретракционную нить Ultraprak# 00 в области нижних центральных резцов в круговую связку зуба на глубину 1,5 мм, тем самым искусственно создавали зубодесневой карман. Для имитации зубных отложений и удерживания ретракционной нити в круговой связке зуба накладывали стоматологический стеклоиономерный цемент ГС Фуджи на лингвальную и 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, 5-е, 7-е и 9-е сутки (Рисунок 1), (Патент РФ «Способ моделирования пародонтита» № 2780544 от 27.09.2022 г., бл. № 27).

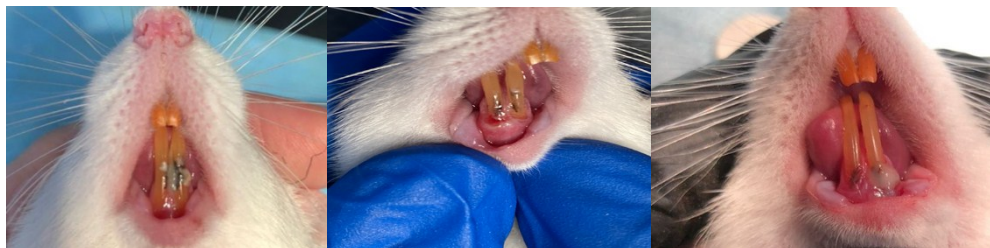


Рисунок 1 - Кровоточивость десен, серозное и гнойное отделяемое из пародонтальных карманов.

Выделение и культивирование стволовых клеток в лабораторных условиях. Получено согласие пациентов в письменной форме на удаление зубов и с последующим выделением из них стволовых клеток (СК) для исследования. В качестве материала исследования использовали пульпу постоянных ретенированных зубов - третьи моляры пациентов в возрастной категории 18–35 лет, удаленных по ортодонтическим показаниям (всего 15 зубов). В стерильных условиях пульпу получали без кариозных поражений и отсутствием признаков воспаления. Нами был оптимизирован забор биоматериала пульпы зуба человека, способ выделения ММСК пульпы зуба человека, а также получение биоматериала и изоляции стволовых клеток, метод эксплантации. Удаленный зуб хирургическим путем обрабатывали антисептиком: 3 % раствором перекиси водорода и 0,05 % раствором хлоргексидина биглюконата. Далее зуб препарировали турбинным наконечником с воздушно-водным режимом, стерильным алмазным бором, в процессе препарирования бор периодически менялся на новый стерильный бор. Далее неповрежденную мягкую ткань пульпы извлекали из коронковой полости и корневых каналов зуба.



Рисунок 2 - Извлечение пульпы зуба и помещение в контейнер.

Для сохранения полученной пульпы зуба в стерильном состоянии и ее дальнейшего транспортирования в лабораторию, был использован специальный пластиковый контейнер (Рисунок 2). В этот контейнер добавляли 5 мл стерильного фосфатного солевого буфера (ФСБ) $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ от компании "Панэко" (Россия), который содержал 0,02% антибиотика (пенициллин-стрептомицин). Затем контейнер помещался в специальный транспортный сосуд, где поддерживалась заданная температура в диапазоне от +2 до +4 °C. Время от момента забора

образца до его поступления в лабораторию не превышало 2 часов. Для выделения СК из пульпы зуба использовался метод эксплантации, для этого пульпу помещали в чашку Петри диаметром 60 мм, где проводилось предварительное двукратное промывание пульпы раствором ФСБ. После удаления буфера, фрагменты ткани были разрезаны на кусочки около 1х1 мм с помощью 2 скальпелей, предварительно к ткани был добавлен 1 мл ФСБ. Кусочки пульпы переносили в центрифужную пробирку на 15 мл, дали им осесть. Удалили аккуратно ФСБ, не затрагивая кусочки. Добавили 500 кл полной культуральной среды (RPMI1640 (Панэко, Россия), 20% фетальной бычьей сыворотки (Ultra Low Endotoxin, Biosera), 100 U/мл пенициллина, 100 мг/мл стрептомицина, 1% Glutamax). Перенесли все содержимое центрифужной пробирки в культуральный флакон T25 с 1000 мл полной среды. Кусочки помещали в инкубатор с температурой 37°C, 5 % по объему CO₂ и влажностью 100%. Производили смену культуральной среды эквивалентного объема каждые 3-4 дня до достижения клетками плотного монослоя вокруг кусочков-эксплантов. На 15-е сутки клетки вместе с эксплантами снимали с поверхности с помощью раствора трипсина 0,05% (Панэко, Россия), промывали в растворе ФСБ, центрифугировали суспензию 4 минуты при 1200 оборотах/мин. 3 мин (центрифуга LMC-4200R, Biosan, Латвия) и пересевали во флакон T25 в полной культуральной среде. Смену культуральной среды также производили каждые 3-4 дня до достижения клетками 70-80 % монослоя. Через 7 суток фрагменты тканей удаляли. Клетки снимали с подложки и пересевали еще 2 раза по выше описанной методике. 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. Осадок клеток ресуспендировали в 400 мкл ФСБ и подсчитывали на автоматическом счетчике клеток TC-20 (BioRad, США). Для этого 10 мкл суспензии клеток смешивали с 10 мкл красителя трипанового синего 0,04%, 10 мкл смеси вносили в лунку слайда и помещали в автоматический счетчик.



Рисунок 3 - Клетки в лунке слайда; аллоплант и ММСК клетки пульпы зуба; пульпа 1, пассаж 0, рост от экспланта, 14 сутки, x100; рисунок 21 - пульпа 5 пассаж 3, 28 сутки, x200.

Для наблюдения за ростом ММСК пульпы зуба человека использовали микрофотографии, полученные при помощи микроскопа Carl Zeiss Axio Observer D1 с помощью камеры AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении окуляра x10 и объектива x 10 (Рисунок 3).

Статистическая обработка. После получения результатов проводился анализ с использованием профессионального пакета программ для обработки статистической информации Statistica 10,0 (Stat Soft).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате ретроспективного анализа медицинской документации 1500 пациентов с заболеваниями пародонта в ГБУЗ РБ стоматологической поликлинике № 4 г. Уфы, в период с 2017 по 2022 год было выявлено, что больные с хроническим гингивитом преобладали в возрастной группе 20-29 лет - 90 человек (6,01%), ХГП ЛС был выявлен преимущественно в группе 30-39 лет - 267 человек (17,8%), ХГП СС в группе с 40-49 лет – 528 человек (35,2%), а ХГП ТС с 50 лет и старше – 615 человек (40,99%).

Удельный вес хронического пародонтита легкой степени составил- 410 человек ($28,7 \pm 0,12\%$); хронический пародонтит средней степени - 569 человек ($27,1 \pm 0,12\%$); хронический пародонтит тяжелой степени - 249 человек ($29,1 \pm 0,12\%$); гингивит - 191 человек ($18,7 \pm 0,12\%$); рецессии – 836 человек ($55,7 \pm 0,12\%$); пародонтоз – 81 человек ($7,6 \pm 0,12\%$) (Рисунок 4).

По результатам распределения пациентов с заболеваниями пародонта по полу было выявлено, что из 1500 обратившихся ($65\% \pm 0,12$) женщины и ($35\% \pm 0,12$)-мужчины.

При анализе медицинской документации за 5 лет, удельный вес локализованной формы пародонтита составил $15,1 \pm 0,15\%$, генерализованной формы $84,9 \pm 0,05\%$.

При анализе амбулаторных медицинских карт за период с 2017 по 2022 гг. с заболеваниями пародонта лечение пациентов с диагнозом хронический пародонтит было терапевтическим, совместно с хирургическим, ортопедическим и ортодонтическим. Лечение включало удаление зубных отложений, закрытый и открытый кюретаж по показаниям, противовоспалительная терапия, лечение зубов с целью санации полости рта, замена пломб по медицинским показаниям, избирательное шлифование зубов, временное или постоянное шинирование подвижных зубов с помощью риббонд ленты и металлических лигатур. Хирургическое лечение пациентов с ХП заключалось в удалении подвижных зубов III степени и с фуркацией корней зубов 3 класса. Лоскутные и костные операции в анамнезе практически не проводились.



Рисунок 4 - Анализ по распространенности заболеваний пародонта.

Ретроспективный анализ позволил получить данные, свидетельствующие о высоком, до $84,9 \pm 0,05\%$ удельном весе пациентов с деструктивными заболеваниями пародонта обратившихся за стоматологической помощью.

Сравнительный ретроспективный анализ амбулаторных карт пациентов с заболеваниями пародонта показал низкую эффективность применяемых способов лечения пациентов с пародонтитом, сопровождающаяся большим процентом рецидивов и осложнений, именно: переход легкой степени в среднюю - в $37,2 \pm 0,3\%$; средней степени в тяжелую в $28,7 \pm 0,1\%$ случаев; обострение пародонтита – в $21,9 \pm 0,1\%$; удаление зубов у пациентов с ХП ЛС тяжести - $1,2 \pm 0,1\%$, при ХП СС тяжести - $13,3 \pm 0,1\%$, при ХП ТС тяжести - $22,1 \pm 0,1\%$.

Комплексное стоматологическое обследование и лечение проводили на 120 пациентах с диагнозом хронический генерализованный пародонтит легкой (ХГП ЛС) и хронический генерализованный пародонтит средней степени (ХГП СС) тяжести, из них 47 мужчин ($35,7\%$) и 73 женщины ($64,3\%$), получавших лечение в клинике ООО «Дентиум» в г. Уфа.

Разработанная карта - опросник позволила выяснить наличие основных жалоб.

При первичном обследовании 120 пациентов с диагнозом ХГП ЛС и ХГП СС тяжести наблюдалось преобладание таких жалоб, как ощущения распирания ($90,5 \pm 2,1\%$), болевые ощущения в полости рта ($94,1 \pm 1,1\%$), кровоточивость десен при приеме пищи и чистке зубов ($96,8 \pm 2,2\%$), отеочность десны ($95,9 \pm 1,3\%$), запах изо рта ($94,7 \pm 2,1\%$), гиперемия десны ($95,7 \pm 1,4\%$), минерализованные зубные отложения $99,7 \pm 1,1\%$), подвижность зубов I степени ($30,9 \pm 2,1\%$), подвижность зубов II степени ($34,4 \pm 3,1\%$), повышенная чувствительность зубов ($91,6 \pm 2,1\%$) (Рисунок 5).

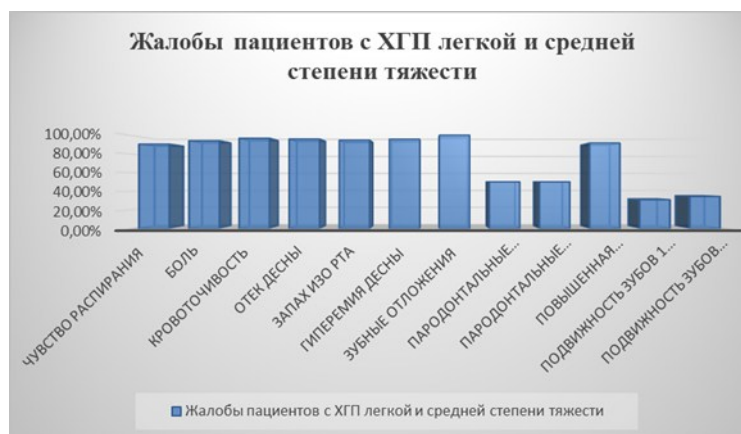


Рисунок 5 – Частота встречаемости жалоб у пациентов с ХГП ЛС и ХГП СС тяжести заболевания.

Контрольную группу составили 30 здоровых лиц, которые были обследованы для уточнения параметров нормы. Индексная оценка стоматологического статуса проводилась по гигиеническому, пародонтальному индексам и индексу кровоточивости. Определяли глубину ПК. По результатам проведенной индексной оценки пациентов с ХГП до лечения выявлено наличие признаков воспаления в тканях десны у всех обследуемых.

У здоровых лиц (КГ, n=20) значения ГИ оказались в пределах $0,6 \pm 0,08$ баллов, ИК 0 баллов, ПИ 0 баллов, что свидетельствовало об отсутствии признаков воспалительных явления в тканях пародонта. У пациентов с ХГП ЛС среднее значение ГИ составило $3,11 \pm 0,1$ баллов ($p < 0,05$), ИК - $0,72 \pm 0,04$ ($p < 0,05$). Значения ПИ у пациентов с ХГП ЛС показало значение в среднем до $1,51 \pm 0,12$ ($p < 0,05$), что говорит о различиях с показателями нормы.

У пациентов с ХГП СС показатели ГИ составили $4,1 \pm 0,16$ баллов ($p < 0,05$), ИК $1,66 \pm 0,09$ ($p < 0,05$). ПИ у пациентов с ХГП СС составил $3,31 \pm 0,15$ ($p < 0,05$), что достоверно выше параметров нормы.

Глубина пародонтальных карманов у пациентов с ХГП ЛС составила в среднем $3,8 \pm 0,21$ ($p < 0,05$), у пациентов с ХГП СС - $4,7 \pm 0,15$ ($p < 0,05$).

Значение подвижности зубов у пациентов с ХГП ЛС в среднем $0,25 \pm 0,2$, у пациентов с ХГП СС - $1,26 \pm 0,03$.

Данные рентгенографического исследования здоровых лиц не выявили изменений в костной ткани альвеолярной кости. Межальвеолярные перегородки имели вид остроконечных и трапециевидных форм. Костный рисунок альвеолярных челюстей имел чёткость, плотность кости не нарушалась.

При анализе данных КЛКТ пациентов с ХГП различной степени тяжести в 100% случаях определялись рентгенологические изменения в альвеолярной кости челюстей, а именно у пациентов с ХГП ЛС выявлялось расширение периодонтальной щели в пришеечной области, резорбция верхушек межзубных перегородок до 1/3 длины корня, разрушение кортикальной пластинки. У пациентов с ХГП СС отмечалось снижение высоты межальвеолярной перегородки от 1/3 до 1/2 длины корня, признаки остеопороза и определялись костные карманы.

Лечение пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом

В зависимости от проводимого лечения исследуемые пациенты были разделены на две группы: основная группа (ОГ), которые применяли базовую терапию и аппликации фитоэкстракта и группа сравнения (ГС), которые применяли базовую терапию и наносили гель Метрогил Дента.

Группа с ХГП ЛС - 52 пациента: ОГ (n=28) пациентов, ГС (n=24).

Группа с ХГП СС - 68 пациентов: ОГ (n=37) пациентов, ГС (n=31).

Комплексное лечение пациентов с ХГП ЛС и ХГП СС проводилось в соответствии с клиническими рекомендациями и включала: обучение и контроль индивидуальной гигиены полости рта; профессиональную гигиену полости рта; удаление над- и поддесневых зубных

отложений, полирование зубов (при необходимости проводили закрытый кюретаж ПК и устранение факторов; способствующих развитию воспалительных явлений в пародонте; избирательное пришлифовывание при необходимости).

После проведения профессиональной гигиены пациентам в домашних условиях назначались полоскания 0,05% раствором хлоргексидина биглюконата, курсом 10 дней, 2 раза в день.

В ОГ дополнительно использовалось местная противовоспалительная терапия – обработка ПК антисептиками – 0,05 % раствором хлоргексидина; аппликации на маргинальную десну фитоэкстракта 2 раза в день. Время экспозиции 15 минут. Курс аппликаций у пациентов с ХГП ЛС составлял 7дней, у пациентов с ХГП СС - 10 дней (Рисунок 6). В ГС использовалось местная противовоспалительная терапия – обработка ПК антисептиками – 0,05 % раствором хлоргексидина; аппликации на маргинальную десну Метрогил Дента 2 раза в день. Время экспозиции 15 минут. Курс лечения у пациентов с ХГП ЛС составлял 7дней, у пациентов с ХГП СС составлял - 10 дней.



Рисунок 6 - Аппликации на десну фитоэкстракта пациенту К.1983г.р. с диагнозом ХГП средней степени.

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, хлорофилл, тимохинон. Оказывает антиоксидантное, противовоспалительное действие. (Рег. номер. АМ.01.01.01.003. R.000803.11.23).

Результаты показали, что применение фитоэкстракта у пациентов с ХГП ЛС тяжести способствовало улучшению параметров стоматологического статуса пациентов данной группы. Курсовое применение комплексного лечения с дополнительным включением фитоэкстракта в ОГ привело к снижению ГИ на 47,3% ($p < 0,05$), при уменьшении параметра у пациентов с применением Метрогил Дента (ГС) - на 27,7% ($p < 0,05$) в сравнении с первоначальными значениями. При этом отмечается значимое снижение ИК у ОГ - на 65,3% ($p < 0,05$), при аналогичном сдвиге у пациентов ГС – на 35,14% ($p < 0,05$), снижение ПИ у ОГ - на 41,8% ($p < 0,05$), у пациентов ГС - на 38,9% ($p < 0,05$) в сравнении с исходными значениями до лечения.

После проведенной терапии у пациентов с ХГП ЛС с применением фитоэкстракта в ОГ через 6 месяцев определялось снижение параметров ГИ и ПИ, с незначительным увеличением параметров ИК.

После проведенных лечебных мероприятий через 12 месяцев у пациентов ОГ с применением фитоэкстракта показатели гигиенического, пародонтального индекса и индекса кровоточивости достоверно снизились по сравнению с показателями до лечения. У пациентов, получавших комплексное лечение с применением Метрогил Дента показатели ПИ и ИК через 12 месяцев приближались к первоначальным значениям.

Комплексное лечение с применением фитоэкстракта у пациентов с ХГП СС тяжести заболевания (ОГ) способствовало улучшению стоматологического статуса после курса лечебных мероприятий со снижением ГИ на 52,6% ($p < 0,05$), при аналогичной динамике ГИ у пациентов ГС на - 24,01% ($p < 0,05$). Значения ИК у ОГ при этом снижались на 69,1% ($p < 0,05$), при уменьшении у ГС на 35,14% ($p < 0,05$) от исходных данных. Смещения ПИ со снижением на 51,5% ($p < 0,05$) у ОГ, и на 41,7% ($p < 0,05$) по сравнению с первоначальными показателями у пациентов с применением Метрогил Дента (ГС).

У пациентов с ХГП СС (ОГ) после проведенного курса лечения через 6 месяцев сохранились полученные результаты: значения ГИ стали ниже первоначальных на 51,4% ($p < 0,05$) ИК - на 68,5% ($p < 0,05$), ПИ - на 53,5% ($p < 0,05$).

У пациентов ОГ после комплексного курса лечения через 12 месяцев показатели ГИ, ИК, ПИ были ниже первоначальных. У пациентов ГС результаты изучаемых параметров статистически не значимы по сравнению с показателями ОГ, в связи с приближением значений к первоначальному через 6 и 12 месяцев.

Полученная динамика изучаемых параметров показала сохранение отдаленных результатов проведенного комплексного лечения с применением фитоэкстракта у пациентов с ХГП СС тяжести заболевания, происходило уменьшение глубины пародонтальных карманов.

Применение фитоэкстракта у пациентов ОГ способствовало улучшению стоматологического статуса, с достоверным снижением гигиенических индексов и способствовало пролонгированному действию в отдаленном периоде, что позволило сделать вывод о хорошем противовоспалительном эффекте.

Полученные данные после терапии с гелем Метрогил Дента у пациентов ГС не показали существенных изменений в динамике гигиенических индексов, глубины ПК и ПЗ (показатели не имели статистически значимых отличий (U – критерий Манна-Уитни, $p > 0,05$). Положительная динамика наблюдалась, но эффект был кратковременным, в отдаленном периоде показатели индексов возвращались к первоначальным значениям.

Применение фитоэкстракта способствовало улучшению показателей стоматологического статуса, со снижением ГИ индекса на 47,3-52,6%, ИК на 65,3-69,1%, ПИ на 41,8-51,5% в основных группах пациентов с ХГП ЛС И ХГП СС тяжести. Так же у них происходило уменьшение глубины ПК до 17,3-21,2%, что говорило о хорошем противовоспалительном эффекте данного лечения.

При рентгенологическом обследовании пациентов методом конусно-лучевой компьютерной рентгенографии проводилась оценка состояния костной ткани, которая позволила установить характер рентгенологических изменений в костной ткани на фоне проводимого лечения. Анализ полученных результатов у пациентов, получавших лечение гелем Метрогил Дента выявлено, у $75,3 \pm 0,12\%$ пациентов выявлены очаги остеопороза в области кортикальных пластинок вершин межзубных перегородок; у $54,7 \pm 0,9\%$ пациентов наблюдались нарушения целостности вестибулярных кортикальных пластинок в области исследуемых зубов фронтальной группы и боковых групп; у $32,9 \pm 0,15\%$ пациентов отмечалось расширение периодонтальной щели у основания межзубных перегородок; у $78,5 \pm 0,15\%$ пациентов наблюдалось потеря высоты межзубных костных перегородок.

По данным КЛКТ у пациентов, получавших лечение фитоэкстрактом составило у $61,1 \pm 0,17\%$ пациентов выявлены очаги остеопороза в области кортикальных пластинок вершин межзубных перегородок; у $39,2 \pm 0,19\%$ пациентов наблюдались нарушения целостности вестибулярных кортикальных пластинок в области исследуемых зубов фронтальной группы и боковых групп; у $22,8 \pm 0,05\%$ пациентов отмечалось расширение периодонтальной щели у основания межзубных перегородок; у $62,3 \pm 0,11\%$ пациентов наблюдалось потеря высоты межзубных костных перегородок.

Таким образом, проведенное рентгенологическое исследование пациентов ОГ дало возможность понять, что лечение с применением фитоэкстракта оказало хороший положительный эффект на состояние пародонта пациентов, с улучшением стоматологического статуса, снижением индексов гигиены, уменьшением воспалительного процесса в тканях, но не воздействовало на деструктивные процессы в альвеолярной кости. То есть воспалительный процесс снижался, но деструкция альвеолярной кости не уменьшалась, не наблюдалось восстановление альвеолярного гребня.

В ГС также не было выявлено значимых изменений в костной ткани.

В связи с этим мы пришли к необходимости разработки нового метода лечения пародонтита, с включением СК на матриксе децеллюляризованной кости дополнительно к фитоэкстракту.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ЛЕЧЕНИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДЕСТРУКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПАРОДОНТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Приготовление лечебного состава и методика внесения стволовых клеток на матриксе децеллюляризованной кости в пародонтальные карманы. В данном исследовании принимали участие 60 самок крыс линии Вистар, возрастом 12 месяцев 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. На протяжении эксперимента исследовали поведение, внешний вид, состояние шерстяного покрова, кожи и видимых слизистых оболочек исследуемых животных, состояние тканей пародонта. В зависимости от проводимых лечебных мероприятий животные разделены на 2 группы, во всех группах была создана модель деструкция костной ткани, кроме контрольной. Контрольную группу составили 10 лабораторных животных со здоровым пародонтом. Предлагаемым способом была пролечена группа экспериментальных животных, крыс в количестве 50 особей с моделированным экспериментальным пародонитом (Рисунок 7).

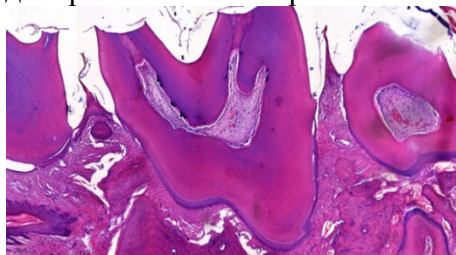


Рисунок 7 - Деструкция костной ткани с острым серозным воспалением. Окраска гематоксилином-эозином (Увеличение $\times 200$).

Под эфирным наркозом животным проводили удаление имитированных зубных отложений, закрытый кюретаж и антисептическую обработку пародонтальных карманов. Суспензию выделенных мультипотентных мезенхимных стволовых клеток из пульпы удаленного ретинированного зуба человека смешивали с матриксом децеллюляризованной кости (Аллоплант, стимулятора остеогенеза, децеллюляризованные костные балки), предварительно замоченном в растворе натрия хлорида 0,9% в соотношении 1:1. Для одного введения использовали 500 тысяч клеток в 50 мкл суспензии клеток и 50 мкл суспензии аллопланта.

Полученную смесь с помощью гладилки вносили в костные (пародонтальные) карманы крыс в области резцов нижней челюсти и фиксировали защитной повязкой Септопак (Рисунок 8).

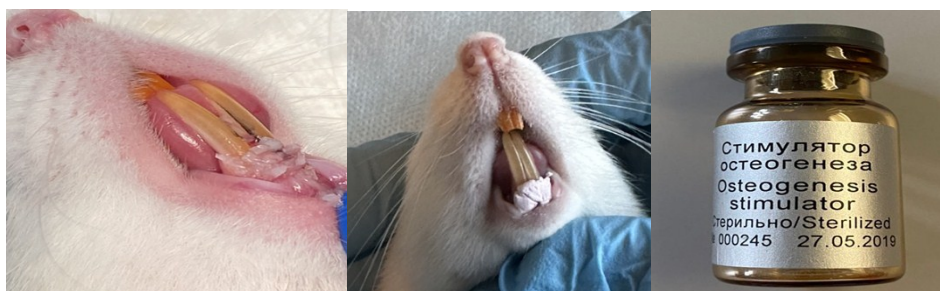


Рисунок 8 - Лечебная смесь СК и децеллюляризованного матрикса кости.

Курс лечения составлял 3 процедуры с интервалом 5 дней. (Патент РФ «Способ лечения пародонтита с помощью мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток пульпы зуба человека и препарата стимулятора остеогенеза» № 2785009 от 01.12.2022 г., бл. №34). Между процедурами наносили фитоконцентрата с тимохиноном в виде аппликаций. Курсом 5 процедур с интервалом 2 дня. (Патент РФ «Способ лечения пародонтита с использованием смеси мягких и твердых частиц элитных семян крамбе сота САНМО и фитоконцентрата САНМО» № 2785008 от 01.12.2022 г., бл. № 34). При лечении экспериментального хронического пародонтита наблюдение за крысами после курса лечения проводили в сроки до 6 месяцев.

В ходе проведенного исследования отмечалось состояние животных, а также состояние тканей десны, подвижность резцов нижней челюсти, наличие кровоточивости, характер и объём экссудата и глубина ПК. В зоне деструкции костной ткани проведены следующие лечебные манипуляции:

1-я группа (n = 40) – основная группа (ОГ) животным в зоне смоделированного пародонтита проводили удаление имитированных зубных отложений, закрытый кюретаж и антисептическую обработку пародонтальных карманов 0,05% раствором хлоргексидина, далее по разработанной схеме вносили в пародонтальные карманы лечебную смесь из состава полученных СК пульпы зуба человека на матриксе децеллюляризованной кости, под защитной повязкой Септопак. Курс 3 процедуры с интервалом в 5 дней. Между процедурами наносили фитоэкстракт в виде аппликаций на десну. Курсом 5 процедур с интервалом 2 дня.

2-я группа (n = 10) – группа сравнения (ГС) животным в Приготовление лечебного состава и методика внесения стволовых клеток на матриксе децеллюляризованной кости в пародонтальные карманы зоне смоделированного пародонтита проводили удаление имитированных зубных отложений, закрытый кюретаж и антисептическую обработку пародонтальных карманов 0,05% раствором хлоргексидина и аппликации гелем Метрогил Дента. Курс лечения составил 10 дней, ежедневно. Во время экспозиции лечебных мероприятий животные находились под эфирным наркозом. После выхода животных из состояния наркоза мы наблюдали постепенное восстановление их нормальной реакции на звуковые, световые и другие раздражители.

Биоматериал Аллоплант представляет собой децеллюлярный тканевой матрикс с определенной фиброархитектоникой, механическими свойствами и гистохимическим составом, подвергнутый лучевой стерилизации и лазерному моделированию. (Рег. удостоверение ФСР 2011/12012 от 03.02.2015 г).

Эффективность предложенного способа изучали сравнительным анализом результатов лечения группы животных.

Результаты проведённых экспериментальных исследований на животных (ГС) продемонстрировали, что к **7м суткам** после лечебных вмешательств: Состояние удовлетворительное, двигательная активность и состояние шерстного покрова в норме. В полости рта у животных сохранялись признаки воспалительного процесса, выраженная гиперемия, отёк слизистой оболочки десны. В частности, наблюдалась кровоточивость из ПК. Характер отделяемого из карманов был серозно-гнойным. Степень ПЗ достигала II-III степени, что свидетельствовало о выраженном поражении пародонта. Средняя глубина зубодесневых карманов в этой группе составила $2,45 \pm 0,14$ мм.

В эти же сроки исследования животных ОГ, которым использовали СК пульпы зуба на матриксе децеллюляризованной кости и фитоэкстракта, **на 7-е сутки**, показали удовлетворительное состояние, двигательная активность и состояние шерстного покрова была в норме. У животных были зафиксированы следующие изменения в полости рта: незначительная кровоточивость десен сохранялась, присутствовал отёк и гиперемия дёсен. Из зубодесневых карманов выделялся экссудат серозного характера. ПЗ достигала II степени. Средняя глубина ПК составила $(2,30 \pm 0,11)$ мм).

На **14-е сутки** у животных ГС общее состояние удовлетворительное, активность и состояние шерстяного покрова в пределах нормы. В полости рта: выраженная гиперемия, отёк слизистой оболочки десны, сохранялось серозное-гнойное отделяемое из ПК, при пальпации дёсен отмечалась кровоточивость. ПЗ е II-III степени. Средняя глубина ПК в этой группе $(2,46 \pm 0,05)$ мм).

На **14-е сутки** у животных ОГ общее состояние удовлетворительное, активность и состояние шерстяного покрова в пределах нормы. При визуальном осмотре в полости рта: обнаруживалось уменьшение отёчности и гиперемии мягких тканей десны отёк, при пальпации десны кровоточивость практически отсутствовала, отделяемое из ПК имело незначительный характер. Средняя глубина ПК $(2,00 \pm 0,10)$ мм); ПЗ составила I-II степени.

На **30-е сутки** у экспериментальных животных ГС состояние удовлетворительное, активность и состояние шерстяного покрова в пределах нормы. В полости рта продолжает сохраняться выраженная гиперемия, отёк слизистой оболочки десны, при пальпации сосочков кровоточивость, отделяемое из ПК, имели серозный характер. Средняя глубина ПК ($2,35 \pm 0,09$ мм); II степени подвижности зубов.

На **30-е сутки у животных** у экспериментальных животных ОГ состояние удовлетворительное, активность и состояние шерстяного покрова в пределах нормы. В полости рта: слизистая оболочка без видимых патологических изменений, не кровоточит, влажная, бледно-розового цвета. При пальпации десны кровоточивость и отделяемое из ПК отсутствовали. Средняя глубина ПК ($1,60 \pm 0,06$ мм); Патологическая подвижность отсутствовала.

При осмотре экспериментальных животных ГС **через 2 месяца** состояние удовлетворительное, двигательная активность и состояние шерстяного покрова в норме. В полости рта: гиперемия, отёк десны сохранялись. Кровоточивость дёсен сохранялась. Отделяемое при пальпации десны имело незначительный характер. Усреднённая глубина ПК ($2,30 \pm 0,05$ мм); подвижность зубов составила II степень.

У животных ОГ **через 2 месяца** общее состояние удовлетворительное, двигательная активность и состояние шерстяного покрова в пределах нормы. В полости рта слизистая оболочка десны бледно-розового цвета умеренно увлажнена, блестящая. При пальпации кровоточивости и отделяемое из ПК отсутствовали. Средняя глубина ПК ($1,23 \pm 0,04$ мм); подвижность зубов отсутствовала.

При осмотре животных ГС **через 6 месяцев** общее состояние животных удовлетворительное, активность и состояние шерстяного покрова в пределах нормы. В полости рта: незначительная гиперемия и отёк слизистой оболочки десны, при пальпации десны кровоточивость сохранена, отделяемое из ПК незначительного характера. Средняя глубина ПК составила ($2,29 \pm 0,08$ мм); Патологическая подвижность нижних резцов I-II степени.

Через 6 месяцев при осмотре экспериментальных животных ОГ, получавших разработанное лечение общее состояние удовлетворительное, активность, состояние шерстяного покрова в норме. В полости рта: слизистая оболочка без видимых патологических изменений, умеренно увлажнена, бледно-розового цвета. Кровоточивость нет, отделяемого при пальпации десны нет. Усреднённая глубина ПК составила ($1,0 \pm 0,02$ мм); подвижность зубов отсутствовала.

Анализ результатов рентгенологических исследований экспериментальных животных ОГ и ГС позволил дать оценку эффективности предложенного метода. Анализировали изменения параметров высоты альвеолярного гребня и кортикальной пластинки у экспериментальных животных ОГ И ГС до лечения, после курса комплексного лечения, через 18 дней, 2 и 6 месяцев (Рисунок 9).



Рисунок 9 - Рентгенологические снимки зубочелюстной системы крыс в различные сроки.



Рисунок 10 - Параметры высоты альвеолярной кости по данным рентгеновских снимков.

Таблица 1 - Показатели высоты на рентгеновском снимке ОГ И ГС в различные сроки

Параметры альвеолярной кости	Основная группа(n=40)				Группа сравнения (n=10)			
Сроки проведения снимков	До лечения	18 суток	2 мес.	6 мес.	До лечения	18 суток	2 мес.	6мес.
Высота, мм	0,39± 0,35	0,41± 0,31	0,51± 0,29	0,62± 0,21	0,39± 0,35	0,39± 0,35	0,40± 0,32	0,41± 0,36

Примечание: степень достоверности $p < 0,001$

Показатели высоты альвеолярного гребня представлены в таблице 1, на рисунке 10. У КГ показатели нормы высоты альвеолярного гребня составляли $0,62 \pm 0,42$. Результаты проведенной рентген - диагностики животных показали, что значения высоты альвеолярного гребня у животных ОГ были выше, и показали статистически значимый прирост костной ткани по высоте, составляя при этом $0,41 \pm 0,31$ мм на 18 суток после терапии ($p < 0,001$).

Результаты рентгенологического исследования альвеолярного гребня животных ГС на 18 суток не показали улучшения параметров ни по одному показателю. Статистически значимых изменений выявлено не было.

По результатам рентгенологического исследования альвеолярного гребня ОГ спустя 2 месяца после проведения лечебных манипуляций выявлено, что в структуре кости преобладает среднеплетистый рисунок, локально сохраняются очаги пятнистого остеопороза, но количество их значительно меньше с исходными данными. Чётко прослеживается кортикальная пластинка челюстей, визуализируется сглаженность вершин межальвеолярных перегородок. Перегородки имеют ровные чёткие контуры и дугообразную форму, что говорит о полном их восстановлении.

Через 2 месяца исследования у животных ГС по результатам рентгенологического исследования альвеолярная кость чередовалась очагами остеосклероза с очагами остеопороза. Определялась сглаженность вершин межальвеолярных перегородок. Кортикальная пластинка прослеживалась не на всех участках альвеолярной кости, контуры ее были нечёткие, прерывистые.

Через 6 месяцев после проведенного лечения у животных ОГ альвеолярная кость визуализировалась чётким среднеплетистым рисунком, кортикальная пластинка определялась по всей челюсти. Определялось отсутствием костных карманов и увеличением высоты межальвеолярных перегородок. Определялось ощутимое увеличение высоты альвеолярного гребня. Стойкая ремиссия деструктивных изменений у ОГ животных определялась 94,2%.

При рентгенологическом исследовании животных ГС через 6 месяцев определялись очаги пятнистого остеопороза, кортикальная пластинка в некоторых участках альвеолярной кости отсутствовала, наблюдалась убыль высоты вершин межальвеолярных перегородок. Все это указывало на продолжающийся процесс резорбции и деструкции костной ткани. Таким образом, рентгенологическое исследование показало, что у животных ОГ проведенная терапия с применением СК на матриксе децеллюляризованной кости и фитоэкстракта привела к существенному улучшению состояния костной ткани альвеолярной кости, полному восстановлению целостности кортикальной пластинки и альвеолярных перегородок, а также к

отсутствию костных карманов. В то время как у животных ГС сохранялись признаки продолжающейся резорбции костной ткани и неполного восстановления тканей пародонта.

Результаты гистоморфологического исследования у животных

Гистоморфологическое исследование на 18 сутки у ОГ экспериментальных животных. У животных ОГ отмечали процесс восстановления альвеолярной кости наблюдались изменения активации неоангиогенеза в периодантальной связке. Наблюдались остеогенные клетки: остеобласты и хондробласты, что свидетельствовала об активном формировании новой костной ткани (Рисунок 11).

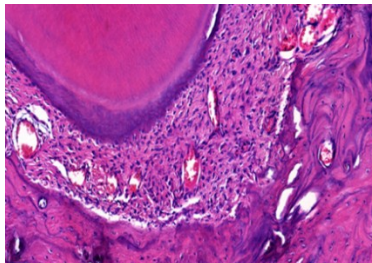


Рисунок 11 - Фрагмент костной ткани на 18-е сутки после лечебных мероприятий ОГ. Ув. x200. окр. Гематоксилин-эозин.

На 18-е сутки у животных ГС в исследованном материале отмечался выраженный воспалительный процесс. Наблюдалось увеличение размеров, отсутствие волокнистого компонента и диффузная инфильтрация нейтрофилами, лейкоцитами, эозинофильными гранулоцитами, а также макрофагами и лимфоцитами (Рисунок 12).

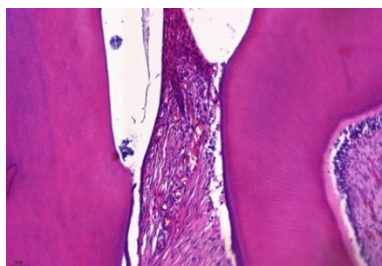


Рисунок 12- Фрагмент костной ткани на 18-е сутки после лечебных мероприятий ГС. Ув. x200. окр. Гематоксилин-эозин.

Гистоморфологическое исследование на 60-е сутки у животных ОГ в пластинчатой кости визуализируются остеоны с кровеносными сосудами в гаверсовом канале. Обращает на себя внимание интенсивный процесс ремоделирования структуры, характеризующийся наличием костных единиц и реверсивных линий (Рисунок 13).

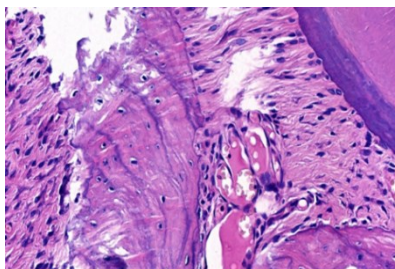


Рисунок 13 - Фрагмент костной ткани на 60 сутки после лечебных мероприятий ОГ. Ув. x200. окр. Гематоксилин-эозин.

Гистоморфологическое исследование на 60-е сутки у животных ГС показало рост рыхлой волокнистой соединительной ткани с не большим количеством коллагеновых волокон (Рисунок 14).

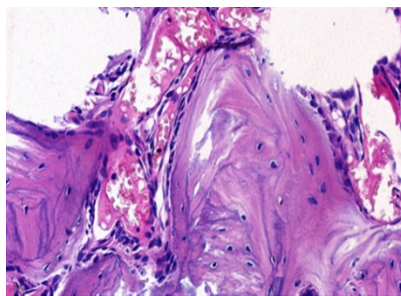


Рисунок 14 - Фрагмент костной ткани на 60 сутки после лечебных мероприятий ГС. Ув. х200. окр. Гематоксилин-эозин.

Гистоморфологическое исследование на 180 сутки у животных ОГ показало, что в альвеолярной кости происходит активное ремоделирование с формированием новой кости. По поверхности кость представлена слоем из остеобластов с новообразованными сосудами, составляющими многоклеточный блок с четкими границами. В меньшей степени костная ткань резорбируется остеокластами, расположенными в локунарной полости Хаушипа (Рисунок 15).

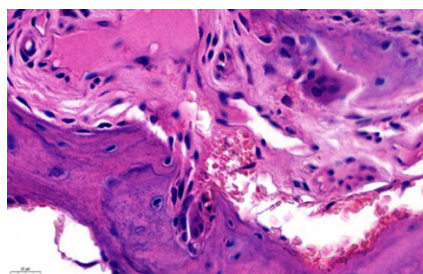


Рисунок 15 - Фрагмент костной ткани на 180 сутки после лечебных мероприятий ОГ. Ув. х200. окр. Гематоксилин-эозин.

Гистоморфологическое исследование на 180 сутки у животных ГС было обнаружено, что при выраженных резорбтивных изменениях в костной стенке альвеолы, включая край межзубных перегородок, наблюдаются обширные лимфоплазмочитарные инфильтраты с примесью лейкоцитов. Кроме того, было отмечено расширение костномозговых пространств в альвеолярном отростке, изъеденность краёв костных балок и наличие групп гигантских остеокластов свидетельствуют о продолжающемся процессе резорбции костной ткани. Присутствие лейкоцитов в инфильтратах также указывает на наличие воспаления (Рисунок 16).

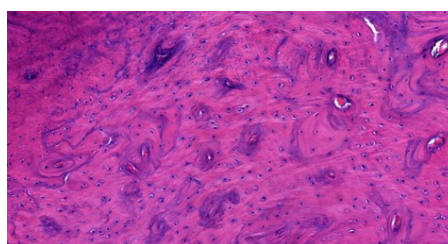


Рисунок 16 - Фрагмент костной ткани на 180 сутки после лечебных мероприятий ГС. Ув. х200. окр. Гематоксилин-эозин.

В результате проведённого гистоморфологического анализа альвеолярной кости у экспериментальных животных было обнаружено, что наиболее эффективное лечение воспалительно-деструктивных процессов пародонта достигается при комплексном применении СК пульпы зуба на матриксе децеллюляризованной кости и фитоэкстракта, уже на 18 сутки. А также сохраняется пролонгированный эффект от проведенных лечебных мероприятий.

Таким образом, курсовое применение разработанного нами лечения у животных основной группы способствовало улучшению состояния тканей пародонта и восстановлению костной ткани альвеолярной кости. На фоне применения разработанного нами лечения, с применением

СК пульпы зуба человека на матриксе децеллюляризованной кости и фитоэкстракта, а также полученных результатов рентенологических и гистоморфометрических исследований, можно достоверно судить о том, что в области деструктивных изменений в пародонте репаративный остеогенез протекает интенсивнее.

Экспериментальные исследования показали возможность полного восстановления деструктивных изменений альвеолярной кости, а также полную регенерацию мягких тканей пародонта в течение первых 2 месяцев после лечения у животных ОГ. При этом наблюдалось улучшение клинической картины - десневой край розовый, без признаков воспаления, снизилась кровоточивость при зондировании, отсутствовал экссудат из ПК, что подтверждает выраженное лечебное действие СК пульпы зуба человека на матриксе децеллюляризованной кости и фитоэкстракта. По всем клиническим показателям отмечалась нарастающая положительная тенденция все это можно объяснить выраженным и устойчивым эффектом.

Проведенные исследования, основанные на принципах доказательной медицины, подтверждают эффективность предложенных нами методов комплексного лечения экспериментальных животных с воспалительно - деструктивными изменениями в пародонте.

ВЫВОДЫ

1. Сравнительный ретроспективный анализ амбулаторных карт пациентов с заболеваниями пародонта показал низкую эффективность применяемых способов лечения пациентов с пародонтитом, сопровождающаяся большим процентом рецидивов и осложнений, именно: переход легкой степени в среднюю - в $37,2 \pm 0,3\%$; средней степени в тяжелую в $28,7 \pm 0,1\%$ случаев; обострение пародонтита – в $21,9 \pm 0,1\%$.

2. Включение фитоэкстракта в лечение пациентов с хроническим пародонтитом улучшало стоматологический статус со снижением гигиенического индекса на $47,3-52,6\%$, пародонтального на $41,8-51,5\%$ и индекса кровоточивости на $65,3-69,1\%$, происходило уменьшение глубины пародонтальных карманов на $17,3-21,2\%$. Состояние тканей пародонта при лечении фитоэкстрактом нормализовалось за счёт снятия воспалительного процесса в мягких тканях пародонта, но рентгенологически установлено, что деструктивные изменения альвеолярной кости не уменьшались.

3. Разработанная экспериментальная модель позволяет в $98,2\%$ случаев смоделировать пародонтит.

4. Разработанный способ лечения с применением стволовых клеток на матриксе децеллюляризованной кости, позволил уменьшить воспаление и добиться стойкой ремиссии заболевания.

5. Разработанный комплексный метод лечения с применением стволовых клеток на матриксе децеллюляризованной кости, доказал свою эффективность и способствовал восстановлению тканей пародонта и альвеолярной кости, что выражалось в отсутствии признаков воспаления у животных к 18-м суткам. Рентгенологически установлено уменьшение деструктивных процессов и восстановление альвеолярного гребня до $50,52-56,95\%$ на 60 сутки. Гистоморфологически происходило ремоделирование с формированием новой кости из слоя остеобластов с новообразованными сосудами, составляющими многоклеточный блок с четкими границами.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для практического здравоохранения разработана карта - опросник, которая способствует совершенствованию ранней диагностики и лечения пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта.

2. Разработанный метод лечения воспалительно-деструктивных изменений в альвеолярной кости при пародонтите на экспериментальной модели позволяет распространить опыт для организации дальнейших клинических исследований в области лечения заболеваний пародонта.

3. Разработанная экспериментальная модель пародонтита, до 14 суток имеет легкую воспроизводимость и позволяет проводить научные исследования для оценки эффективности

препаратов, применяемых для регенерации деструктивных изменений костной ткани в пародонтологической практике.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ

1. Концепция получения и использования мультипо-тентных мезенхимальных стволовых клеток при лечении стоматологических заболеваний: обзор литературы / Г.А. Валеева, Р.Р. Хайбуллина, К.В. Данилко [и др.] // **Эндодонтия Today**. - 2021. – Т. 19, № 2. - С. 107-111.
2. Лечение деструкции костной ткани препаратом стимулятором остеогенеза / Г.А. Валеева, Р.Р. Хайбуллина, К.В. Данилко [и др.] // **Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия Естественные и технические науки**. – 2022. - № 6-2. - С. 174-177.
3. Лечение хронического пародонтита с использованием препарата на основе растительных компонентов в эксперименте / Г.А. Валеева, Р.Р. Хайбуллина, К.В. Данилко [и др.] // **Эндодонтия Today**. - 2022. – Т. 20, № 2. - С. 179-182.
4. Лечение хронического пародонтита с использованием мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток в эксперименте / Г.А. Валеева, Р.Р. Хайбуллина, К.В. Данилко [и др.] // **Кафедра**. – 2022. – Т. 81, № 3. - С. 38-42.
5. Валеева, Г.А. Экспериментальное гистоморфологическое обоснование эффективности сочетанного применения мультипотентных стволовых клеток и стимулятора остеогенеза при пародонтите / Г.А. Валеева // **Российский стоматологический журнал**. – 2023. – Т. 27, № 4. - С. 295-299.
6. Лечение пациентов хроническим пародонтитом с применением фитоэкстракта / Г.А. Валеева, Л.П. Герасимова, Ф.З.Мирсаева [и др.] // **Российский стоматологический журнал**. – 2024. – Т. 28, № 2. - С. 167-172.
7. Ретроспективный анализ заболеваемости хроническим пародонтитом и рецессией десны у пациентов г. Уфы / Г.А. Валеева, Н.В. Лопатина, Р.Р. Хайбуллина, [и др.] // **Российский стоматологический журнал**. – 2024. – Т. 28, № 2. - С. 223-228.

Патенты

1. Патент № 2785008 С1 Российская Федерация. Способ лечения пародонтита с использованием смеси микса мягких и твердых частиц элитных семян крамбе сота САНМО и фитоконцентрата САНМО / Р.Р. Хайбуллина, К.В. Данилко, О.Р. Шангина [и др.]; заявитель и правообладатель: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный университет». – Заявка № 2022102397; заявл. 01.02.2022; опубл. 01.12.2022, Бюл. № 34. – 8 с.
2. Патент № 2785009 С1 Российская Федерация. Способ лечения пародонтита с помощью мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток пульпы зуба человека и препарата стимулятора остеогенеза / Р.Р. Хайбуллина, К.В. Данилко, О.Р. Шангина [и др.]; заявитель и правообладатель: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный университет». – Заявка № 2022102398; заявл. 01.02.2022; опубл. 01.12.2022, Бюл. № 34. – 7 с.
3. Патент № 2780544 С1 Российская Федерация. Способ моделирования пародонтита / Р.Р. Хайбуллина, К.В. Данилко, Г.А. Валеева [и др.]; заявитель и правообладатель: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный университет». – Заявка № 2022102400; заявл. 01.02.2022; опубл. 27.09.2022, Бюл. № 27. – 7 с.

Работы, опубликованные в других изданиях

1. Мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки при лечении стоматологических заболеваний (обзор литературы) / Г.А. Валеева, Р.Р. Хайбуллина, К.В. Данилко [и др.] //

Актуальные вопросы стоматологии: сборник материалов XI Приволжского стоматологического форума. – Уфа, 2021. – С. 29-35.

2. Особенности выделения, роста и размножения мультипотентных стволовых клеток / Р.Р. Хайбуллина, Г.А. Валеева, Н.В. Лопатина [и др.] // Актуальные вопросы стоматологии: сборник материалов XI Приволжского стоматологического форума. – 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. Валеева, Г.А. Гистоморфологическое исследование альвеолярной кости при пародонтите в эксперименте / Г.А. Валеева // Главврач. – 2022. - № 11. – С. 23-28.

5. Применение мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток при лечении стоматологических заболеваний / Р.Р. Хайбуллина, Г.А. Валеева, Н.В. Лопатина [и др.] // Инновационная медицина. – 2023. – Т. 1, № 5. - С. 151.

6. Гистология альвеолярной кости при пародонтите в эксперименте / Р.Р. Хайбуллина, Г.А. Валеева, Л.П. Герасимова [и др.] // Актуальные проблемы стоматологии и челюстно-лицевой хирургии : Сборник международного конгресса стоматологов. – Ташкент, 2023. – С. 549-554.