

СТОМАТОЛОГІЯ

injection of platelet autoplasm (PAP) were analyzed according to a developed scale. **Results.** It was found out that in patients of the main groups (2) the first clinical signs of inflammation decreased significantly ($p < 0.05$); gums bleeding decreased or disappeared in 5 days after the first injection of PAP by modified method. In the control group (1) signs of inflammation disappeared 2 - 2.5 times slower ($p < 0.05$). Pain during injection of PAP in patients of the main group was significantly lower than in patients of the control group and averaged 1.24 ± 0.44 points vs 2.06 ± 0.66 points.

Conclusions. The proposed method of circular injection stimulates reparative regeneration processes immediately in all segments of the upper and lower jaw, providing psychological comfort of patients; it reduces the number of visits and enhances the therapeutic effect of standard basic therapy for chronic GP.

Key words: generalized periodontitis, platelets reach autoplasm, platelets, PRP therapy, injection form of PRP.

Відомості про авторів:

Білоклицька Галина Федорівна - д. мед. н., професор, зав. кафедрою терапевтичної стоматології інституту стоматології НМАПО імені П.Л. Шупика. Адреса: Київ, бульвар Шевченка, 1, тел.: (044) 234 20 29.

Копчак Оксана Вікторівна – к. мед. н., доцент кафедри терапевтичної стоматології інституту стоматології НМАПО імені П.Л. Шупика. Адреса: Київ, бульвар Шевченка, 1, тел.: (044) 234 20 29.

УДК 616-018.4-003.93-085:612.08

© КОЛЕКТИВ АВТОРІВ, 2015

¹ Г.Ф. Білоклицька, ²Л.М. Панченко, ¹Ю.Є. Браун

ВПЛИВ ЕМАЛЕВИХ МАТРИЧНИХ ПРОТЕЇНІВ НА ОСТЕОГЕННІ КЛІТИНИ-ПОПЕРЕДНИКИ КІСТКОВОГО МОЗКУ ЛЮДИНИ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Національна медична академія післядипломної освіти
імені П. Л. Шупика¹,

Інститут травматології і ортопедії НАМН України²

Вступ. Сучасне лікування генералізованого пародонтиту (ГП) II, II-III ступенів включає проведення хірургічної фази, яка має на меті створення умов та забезпечення регенерації пародонта з подальшою тривалою ремісією захворювання. Важливе клінічне значення мають знання щодо можливостей регенерації кісткової тканини в області пародонтального дефекту.

Мета. Дослідити остеоіндуктивні властивості прямого впливу Emdogain шляхом впливу на остеогенні клітини - попередники кісткового мозку людини - колонієутворюючі одиниці фібробластів (КУОф) ex vivo.

Матеріали і методи. Дослідження прямого впливу Emdogain, Pref-Gel ex vivo проведено у 4 серіях експериментів по клонуванню КУОф кісткового мозку людини за методикою Фріденштейна О.Я. (1973) в модифікації Астахової В. С. (1982) з визначенням регенераторного потенціалу кісткової тканини серед 105 ядровміщуючих клітин (ЕККУОф).

Результати. При проведенні 4-ох серій експериментальних досліджень бактеріальний чи грибовий проріст не спостерігали в жодній серії. В 6 випадках

(66,7%) I-ї та II-ї серії експериментів при додаванні травильного гелю Pref-Gel та комбінації Pref-Gel з Emdogain, ріст стромальних фібробластів не спостерігався. Ефективність клонування – ЕККУОф = 0. В культуральних флаконах зустрічались лише поодинокі стромальні фібробласти, які не утворювали колонії. Тільки в III-й серії ріст КУОф спостерігався в усіх культуральних флаконах (33,3%) з додаванням Emdogain з кількістю нових колоній від 127 до 157 з ЕККУОф від 13,23 до 16,35. В середньому з цієї групи виросли 145 колоній КУОф з ЕККУОф 15,10±0,95 серед 105 ядровміщуючих клітин. В контрольній серії ріст КУОф спостерігався у всіх культуральних флаконах і кількість колоній склала від 69 до 152 з ЕККУОф від 7,19 до 15,83. В середньому з цієї серії виросло 120 колоній КУОф з ЕККУОф 12,48±1,24 серед 105 ядровміщуючих клітин. Ad oculus колонії 4-х серій експериментів не відрізнялись одна від одної.

Висновки. За даними досліджень, проведених *ex vivo* остеоіндуктивні властивості протаманні тільки Emdogain, що вказує на доцільність його використання при хірургічних втручаннях на пародонті.

Ключові слова: генералізований пародонтит, регенерація, емалеві матричні протеїни, Emdogain, остеоіндукція.

Вступ. Генералізований пародонтит (ГП) є найбільш поширеною патологією серед хвороб тканин пародонта [2, 3, 7, 8]. Для нього характерний хронічний перебіг з прогресуючою деструкцією періодонтальних тканин, при якій вражається в основному альвеолярна кістка та періодонтальна зв'язка [7, 8, 9, 10], що може призвести до втрати зуба. Досягненнями останніх десятиліть було показано, що пародонтальна регенерація може бути досягнута під дією емалевих матричних протеїнів (ЕМП), в тому числі препарату Emdogain [9, 10]. Роботами чисельних авторів показано, що стромальні клітини-попередники кісткового мозку також можуть приймати участь у регенерації пародонта [1, 2, 3, 5, 9], підсилюючи ремоделювання та регенерацію пародонтальних тканин [9, 10]. Однак до тепер є незрозумілим, який з типів ЕМП індуктує регенерацію та які саме молекулярні механізми задіяні в цьому процесі [5, 6, 7, 9, 10]. Під час дослідження прямої дії ЕМП на людські остеобласти лінії SaM-1 від одного пацієнта (Keila S. et al., 2004) на строму кісткового мозку стегнової кістки щура (Mizutani S. et al., 2003) та преостеобластичну лінію клітин мишей в експерименті (He J. et al., 2004), була визначена значна стимуляція на проліферацію клітин. Однак Rickon J.C. et al. (2005) в своєму дослідженні при використанні клітин альвеолярного паростка, не спостерігали ефекту від прямої дії ЕМП на процеси проліферації. Проте використання ЕМП при хірургічних втручаннях на пародонті за даними Sculean A. et al. (2014) призводить до регенерації кісткової тканини та сприяє кращому загоєнню з відновленням м'яких тканин [7, 8, 9]. Наявність суперечливих даних щодо особливостей впливу Emdogain на остеогенні прогеніторні клітини, стало підставою для проведення даного дослідження.

Мета. Дослідити остеоіндуктивні властивості прямого впливу Emdogain шляхом впливу на остеогенні клітини - попередники кісткового мозку людини - колонієутворюючі одиниці фібробластів (КУОф) *ex vivo*.

Матеріали і методи. Клонування КУОф кісткового мозку проводили згідно методики Фріденштейна О. Я. (1973) [5] в модифікації Астахової В.С. (1982) [1]. Для дослідження використовували здухвинну спонгіозну кістку, яку брали у соматично здорових пацієнтів поза межами вогнищ запалення та дегенеративно-дистрофічних уражень при проведенні ортопедичних хірургічних втручань. Забір губчастої кісткової тканини проводили в умовах

операційної та поміщали в контейнер з поживним середовищем "199". Подальша обробка зібраного матеріалу проводилась в лабораторному боксі в стерильних умовах. Клонування клітин здійснювалось згідно стандартних умов протягом 14 днів без зміни поживного середовища у флаконах Ру (культуральні флакони) при температурі 370С в газовій суміші із вмістом 5% CO₂ в атмосферному повітрі з використанням летально опромінених клітин кісткового мозку кроля в якості фідера.

Для дослідження прямого впливу Emdogain на клонування КУОф кісткового мозку людини було проведено 4 серії експериментів *ex vivo*. I серія - в культуральний флакон протягом посадки матеріалу до клітин кісткового мозку додавали Pref-Gel. II серія - в культуральний флакон протягом посадки клітин кісткового мозку додавали Pref-Gel і Emdogain. III серія - в культуральний флакон додавали лише Emdogain. IV серія - клонування КУОф проводили без додавання будь-яких зазначених препаратів, контрольна серія. В умовах проведених серій експериментів було вирощено 9 експериментальних та 6 контрольних колоній. Регенераторний потенціал кісткової тканини оцінювали згідно значення показника ефективності клонування КУОф кісткового мозку людини серед 105 ядровміщуючих клітин (ЕККУОф). Показник ефективності клонування КУОф оцінювали згідно формули:

$$\text{ЕККУОф} = \frac{K}{N} \times 10^5$$

де K – кількість колоній, які вирости в культуральному флаконі на 10⁵ ступені; N – кількість клітин, які були посажені в культуральний флакон. Статистичний аналіз проводили в програмі "Statistica".

Результати та їх обговорення. При проведенні клонування КУОф кісткового мозку людини бактеріальний чи грибовий проріст не спостерігали в жодній серії експериментів. У 1-й та 2-й серіях експерименту в 6 випадках (66,7%) при додаванні травильного гелю Pref-Gel та комбінації Pref-Gel з Emdogain ріст стромальних фібробластів не спостерігався, ефективність клонування - ЕККУОф= 0. В культуральних флаконах зустрічались лише поодинокі стромальні фібробласти, які не утворювали колонії. В 3-й серії експеримента ріст КУОф спостерігався в усіх культуральних флаконах (33,3%) з додаванням Emdogain та кількість нових колоній коливалась від 127 до 157, ЕККУОф складала 13,23-16,35. В середньому з цієї серії виростили 145 колоній КУОф з ЕККУОф 15,10±0,95 серед 105 ядровміщуючих клітин. В IV серії (контрольній) ріст КУОф спостерігався у всіх культуральних флаконах і кількість колоній складала від 69 до 152 з ЕККУОф від 7,19 до 15,83. В середньому в цій серії виростили 120 колоній КУОф з ЕККУОф 12,48±1,24 серед 105 ядровміщуючих клітин. При порівнянні *ad oculus* колонії трьох серій (I, II, III) та контрольної (IV) не відрізнялись одна від одної.

Висновки. В 1-й та 2-й експериментальній групах ріст стромальних фібробластів не спостерігався, ЕККУОф=0. В 3-й групі в середньому виростило 145 колоній КУОф, з ЕККУОф 15,10±0,95 серед 105 ядровміщуючих клітин. В контрольній групі в середньому виростило 120 колоній КУОф, з ЕККУОф 12,48±1,24 серед 105 ядровміщуючих клітин. *Ad oculus* колонії контрольної та груп основної групи не відрізнялись одна від одної. Emdogain на 20,8% в порівнянні з контрольною групою підвищує кількість КУОф у кістковому мозку, підвищуючи специфічну щільність багаточислових колоній, вказуючи на наявність в нього

остеоіндуктивних властивостей. Попередні результати проведеного *ex vivo* дослідження показали наявність прямої дії Emdogain з додатковими складовими на остеогенні клітини-попередники кісткового мозку здухвинної кістки людини, про що свідчить підвищення активності КУОф на 20,8% у порівнянні з контролем. Підвищення специфічної щільності багат шарових колоній під впливом Emdogain вказує на наявність у нього остеоіндуктивних властивостей. Отримані результати мають значення при проведенні хірургічних втручань на пародонті.

Література

1. Astachova VS. Comparative characteristics of ksenofiders during cloning of human bone marrow stromal fibroblasts. // Bulletin of experiment, biology and medicine. – 1982. - №17. – P. 111-113.
2. Bosshardt DD. Biological mediators and periodontal regeneration: a review of enamel matrix proteins at the cellular and molecular levels. // J. Clin. Periodontol. – 2008. - №35. – P. 87-105.
3. Bosshardt DD & Nanci A. Hertwig's root sheath, enamel matrix proteins, and initiation of cementogenesis in porcine teeth. // Journal of Clinical Periodontology. – 2004. - №31. – P. 184-192.
4. Deutsch D., Haze-Fildelman A., Blumenfeld A. [et al.] Amelogenin, a major structural protein in mineralizing enamel, is also expressed in soft tissues: brain and cells of the hematopoietic system. // Eur. J. Oral Sci. – 2006. - Vol. 114. – P. 183-189.
5. Fridenstein A.J., Lalikina K.S. Induction of bone tissue and osteogenous progenitor cells.- Moscow: «Medicine». – 1973. - 223 p.
6. Galli C., Macaluso G.M., Guizzardi S., vescovini R., Passeri M., Passeri G. Osteopretergin and receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand modulation by enamel matrix derivate in human alveolar osteoblasts // Journal of Periodontology. - №77. - P. 1223-1228.
7. Guida L., Annunziata M., Carinci F., Di Feo A., Passaro I., Oliva A. In vitro biologic response of human bone marrow stromal cells to enamel matrix derivative // Journal of Periodontology. – 2007. -№78. – P. 2190-2196.
8. Hagenaaars S., Louwerse P.G.H, Timmerman M.F., et al. Soft-tissue wound healing following periodontal surgery and Emdogain applicaton. // J Clin Periodontol. – 2004. - №31. - P. 850.
9. Hammaström L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. // J. Clin. Periodontol. – 1997. - № 24. – P. 658-68.
10. Hammaström L., Heijl L., Gestrelus S. Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins // J. Clin Periodontol. – 1997. - №24. – P. 669-677.

Г.Ф.Белоклицкая, Л.М.Панченко, Ю.Е.Браун

Влияние эмалевых матричных протеинов на остеогенные клетки-предшественники костного мозга человека (экспериментальное исследование)

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика,

Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины

Вступление. Современное лечение генерализованного пародонтита (ГП) II, II-III степеней включает проведение хирургической фазы, целью которой является
Зб. наук. праць співробіт. НМАПО _____ 491
імені П.Л.Шупика 24 (1)/2015

создание условий и обеспечение регенерации пародонта с последующей долговременной ремиссией заболевания. Важное клиническое значение имеют знания о возможностях регенерации костной ткани в области пародонтального дефекта.

Цель. Исследовать остеоиндуктивные свойства прямого влияния Emdogain путем влияния на остеогенные клетки – предшественники костного мозга человека - колониеобразующие единицы фибробластов (КОЕф) *ex vivo*.

Материалы и методы. Исследование прямого влияния Emdogain, Pref-Gel *ex vivo* проведено в 4 сериях экспериментов по клонированию КОЕф костного мозга человека по методике Фриденштейна А. Я. (1973) в модификации Астаховой В. С. (1982) с определением регенераторного потенциала костной ткани среди 105 ядродержащих клеток (ЭККОЕф).

Результаты. При проведении 4-х серий экспериментальных исследований бактериальный или грибковый пророст не наблюдался ни в одной серии исследований. В 6 случаях (66,7%) I-й и II-й серии экспериментов при добавлении травильного геля Pref-Gel и комбинации Pref-Gel с Emdogain, рост стромальных фибробластов не наблюдался. Эффективность клонирования – ЭККОЕф = 0. В культуральных флаконах встречались только одинокие стромальные фибробласты, которые не образовывали колонии. Только в III-й серии рост КОЕф наблюдался во всех культуральных флаконах (33,3%) с добавлением Emdogain с количеством новых колоний от 127 до 157 с ЭККОЕф от 13,23 до 16,35. В среднем с этой группы выросли 145 колоний КОЕф с ЭККОЕф $15,10 \pm 0,95$ среди 105 ядродержащих клеток. В контрольной серии рост КУОф наблюдался во всех культуральных флаконах и количество колоний составила от 69 до 152 с ЭККОЕф от 7,19 до 15,83. В среднем в этой серии выросли 120 колоний КОЕф с ЭККОЕф $12,48 \pm 1,24$ среди 105 ядродержащих клеток. Ad oculus колонии 4-х серий экспериментов не отличались между собой.

Выводы. По данным исследований, проведенных *ex vivo* остеоиндуктивные свойства характерны только для Emdogain, что указывает на целесообразность его использования при хирургических вмешательствах на пародонте.

Ключевые слова: генерализованный пародонтит, регенерация, эмалевые матричные протеины, Emdogain, остеоиндукция.

H.Biloklytska, L.Panchenko, Yu.Braun

Action of enamel matrix proteins on human osteogenous progenitor bone-marrow cells, an experimental study

**Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education,
Institute of Traumatology and Orthopedics National Academy of Medical
Sciences of Ukraine**

Introduction. Modern treatment of moderate and severe generalized periodontitis (GP) includes a surgical phase aimed at creating conditions for regeneration and long-term remission. Knowledge about regenerative capabilities of bone tissue in the periodontal defect area is of great clinical importance.

Aim. To investigate (*ex vivo*) osteoinductive properties of Emdogain direct action on osteogenous progenitor cells - colony-forming fibroblast units (CFFU) of human bone marrow.

Materials and methods. The investigation (*ex vivo*) of Emdogain Pref-gel direct action was conducted by 4 sets of experiments on CFFU cloning of human bone marrow by O. Fridenstein's technique (1973) in V.Astakhova's modification (1982) with determination of cloning effectiveness among 105 nucleus-containing cells.

Results. Bacterial or fungal growth promotion was not seen during 4 experimental

series of investigation. In 6 occasions (66.7%) of experimental series 1 and 2 stromal fibroblasts growth was not observed while adding etching Pref-Gel and combination of Pref-Gel with Emdogain. The cloning effectiveness was 0. Only solitary stromal fibroblasts were detected in cultural vials. Only in experimental series 3, CFFU growth promotion was detected in all cultural vials (33.3%) in adding Emdogain with the number of new colonies from 127 to 157, cloning effectiveness of 13.23 to 16.35. On average, 145 colonies of CFFU were found for the series with cloning effectiveness of 15.10 ± 0.95 among 105 nucleus containing cells. In control series CFFU growth promotion was seen in all cultural vials and the number of colonies was 69 to 152 with cloning effectiveness from 7.19 to 15.83. 120 colonies. On average, 120 colonies were seen in this series of experiment with cloning effectiveness of 12.48 ± 1.24 among 105 nucleus containing cells. Ad oculus of the colonies from 4 series of experiment did not differ.

Conclusions. According to data resulted from ex vivo series of experiments, Emdogain was found to have osteoinductive properties, that confirms the advisability of its usage during surgery on periodontal tissues.

Key words: generalized periodontitis, regeneration, enamel matrix proteins, Emdogain, osteoinductive.

Відомості про авторів:

Білоклицька Галина Федорівна – д.м.н., професор, зав. каф. терапевтичної стоматології НМАПО імені П.Л. Шупика. Адреса: м. Київ, бул. Т. Шевченка, 1, тел.: (044) 246-70-66.

Панченко Леся Михайлівна – к.м.н., завідувач лабораторії імунології Інституту травматології і ортопедії НАМН України. Адреса: м. Київ, вул. Воровського, 27, тел.: (044) 486-86-65.

Браун Юлія Євгенівна – аспірант кафедри терапевтичної стоматології НМАПО імені П.Л. Шупика. Адреса: м. Київ, бул. Т. Шевченка 1.

УДК: 616.314.165-002.2-092-08:616.523

© КОЛЕКТИВ АВТОРІВ, 2015

**Т.М. Волосовець, О.М. Дорошенко, Н.М. Юнакова,
М.В. Дорошенко**

ОЦІНКА ВПЛИВУ СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ ГЕРПЕТИЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ НА ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ХРОНІЧНИХ ПЕРІОДОНТИТІВ

Інститут стоматології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика

Вступ. Залишаються недостатньо вивченими особливості перебігу та лікування хронічного періодонтиту у пацієнтів за наявності персистоючої герпесвірусної інфекції (ГВІ), яка суттєво впливає на стан імунологічної резистентності організму та погіршує загальний прогноз перебігу стоматологічної патології.

Мета. Визначити вплив ступеня тяжкості герпетичної інфекції на особливості перебігу хронічних періодонтитів (ступінь деструкції периапікальної ділянки).

Матеріал і методи. Аналіз даних анамнезу 106 пацієнтів із різними формами хронічних періодонтитів на фоні персистоючої герпесвірусної інфекції щодо кількості та тривалості рецидивів ГВІ протягом року згідно рекомендацій М.Ф. Данилевського, визначення модифікованого периапікального індекса PAI за А.М. Соловйовою.