

Національний університет охорони здоров'я України  
імені П.Л. Шупика



## НОВІ ТЕХНОЛОГІЇ ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ ХВОРОБ ПАРОДОНТА, М'ЯКИХ ТКАНИН ЩЕЛЕПНО-ЛИЦЕВОЇ ДІЛЯНКИ

робота, що подається на здобуття Премії Президента України  
для молодих вчених в 2024 році

### **Автори:**

**Слободяник - Коломоєць Мар'яна Володимирівна** – кандидат медичних наук, асистент кафедри терапевтичної стоматології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика.

**Жураковська Галина Василівна** – доктор філософії, асистент кафедри хірургічної стоматології Національного медичного університету імені О.О.Богомольця.

# Актуальність роботи



- Генералізований пародонтит чинить системний вплив на загальний стан здоров'я людини.
- Стоматологічні маніпуляції та оперативне втручання в порожнині рота при тяжкому перебігу генералізованого пародонтиту є чинником ризику виникнення транзиторної бактеріємії і, як результат, – системного інфекційного захворювання, що зумовлює утворення вторинних вогнищ інфекції на значній відстані від первинної ланки інфекційного процесу.
- Загоєння ран – це складний репаративний процес, в якому суттєву роль відіграють субпопуляція фіброblastів, міофіброblastів, факторів росту, цитокінів і компонентів позаклітинного матриксу.
- Косметичні та функціональні проблеми, такі як контрактури м'яких тканин та рубцеві деформації, а також суб'єктивні симптоми пацієнтів (свербіж та біль), впливають на якість життя пацієнтів, їх фізичний стан та психологічне здоров'я.

# Мета дослідження:

- вивчення особливостей будови матриці біоплівки ротової порожнини, дослідження патогенного потенціалу бактерій та їх впливу на системну запальну реакцію, за результатами клініко-мікробіологічних досліджень визначити поширеність представників пародонтопатогенної мікрофлори в пацієнтів з набутими вадами серця та підвищення ефективності профілактичних інтраопераційних заходів стосовно ризику виникнення неестетичних післяопераційних рубців шкіри шляхом застосування і порівняння різних методів закриття операційних ран шкіри в експерименті.

# Завдання дослідження:

1. Вивчення особливостей будови матриці біоплівки ротової порожнини для забезпечення патогенного потенціалу пародонтопатогенної мікрофлори та ролі позаклітинної ДНК мікробного біофільму в патогенезі захворювань пародонта.
2. Визначити роль позаклітинної ДНК в патогенезі захворювань пародонта.
3. Клініко-мікробіологічними методами дослідження визначити зв'язок між мікробним обсіменінням тканин пародонта у хворих на генералізований пародонтит і бактеріальним ураженням видалених клапанів серця у пацієнтів з набутими вадами серця.
4. Визначити поширеність представників пародонтопатогенної мікрофлори в пародонтальних карманах і на клапанах серця пацієнтів з набутими вадами серця в залежності від перебігу генералізованого пародонтиту.
5. В експерименті вивчити та порівняти патоморфологічну картину рубців м'яких тканин залежно від методу закриття операційних ран.
6. Вивчити біомеханічні характеристики рубцевої тканини при різних методах закриття операційних ран м'яких тканин в експерименті.
7. На підставі даних експерименту провести аналіз отриманих даних та розробити рекомендації щодо вибору методу закриття операційних ран відповідно до особливостей задіяної анатомічної ділянки.

## Архітектура мікробного біофільму пародонтальних карманів пацієнта з генералізованим пародонтитом

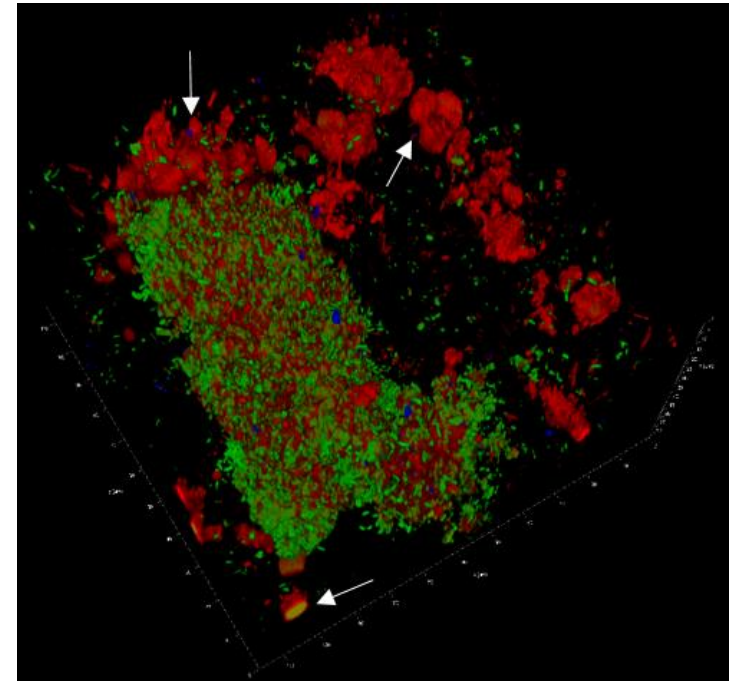
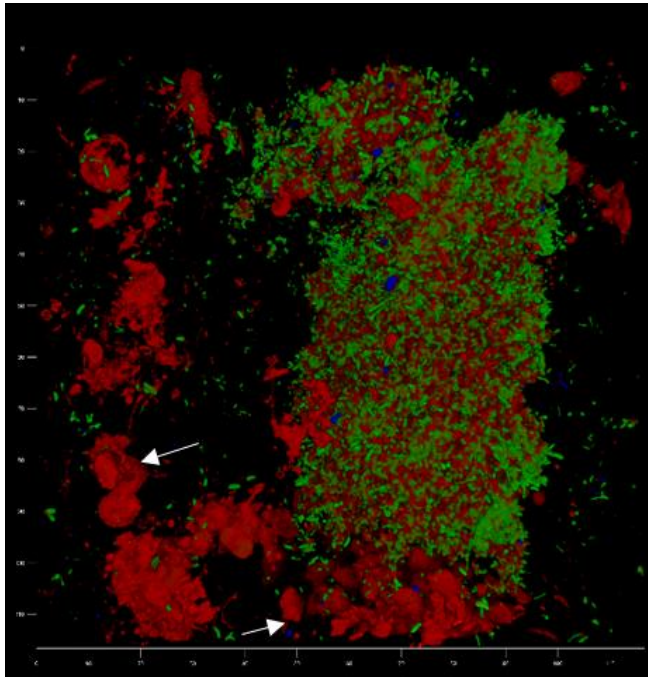


Рис.1. фарбування SYBR green, eDNA stain і калькофлуор вайтом. Зеленим вибірково забарвлено бактерії, що утворили біофільм, красним забарвлено позаклітинну ДНК і, зокрема, лейкоцити, що вкрити цією вільною ДНК (білі стрілки). Синім представлено поодинокі клітини дріжджових грибів, ймовірно, *Candida spp.* КЛСМ.

Досліджено адаптивний характер утворення біофільму та конструювання екологічної ніші в під'ясенному просторі внаслідок залучення позаклітинної ДНК макроорганізму.

Встановлено, що в разі тяжкого перебігу генералізованого пародонтиту амілоїдогенез пригнічується а позаклітинна ДНК стає основним компонентом матриці біофільму, який підтримує життєдіяльність пародонтопатогенної мікрофлори і захищає її від дії протимікробних препаратів.



## Архітектура мікробного біофільму пародонтальних карманів пацієнта з генералізованим пародонтитом

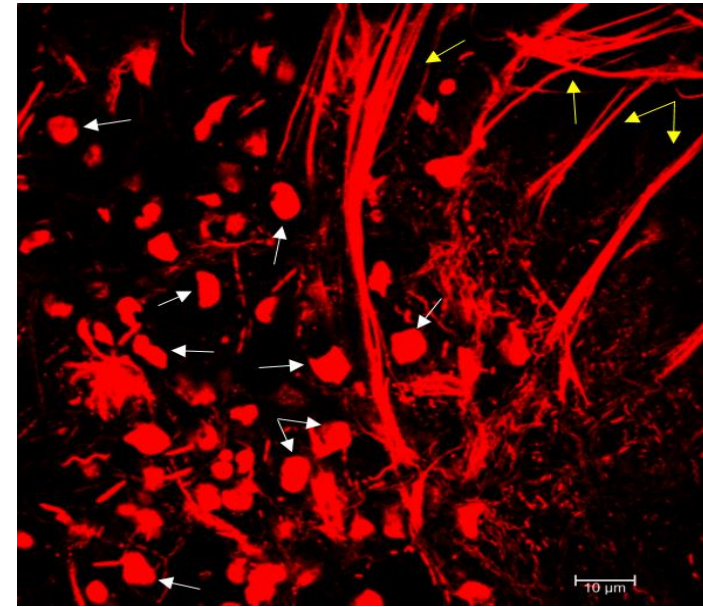
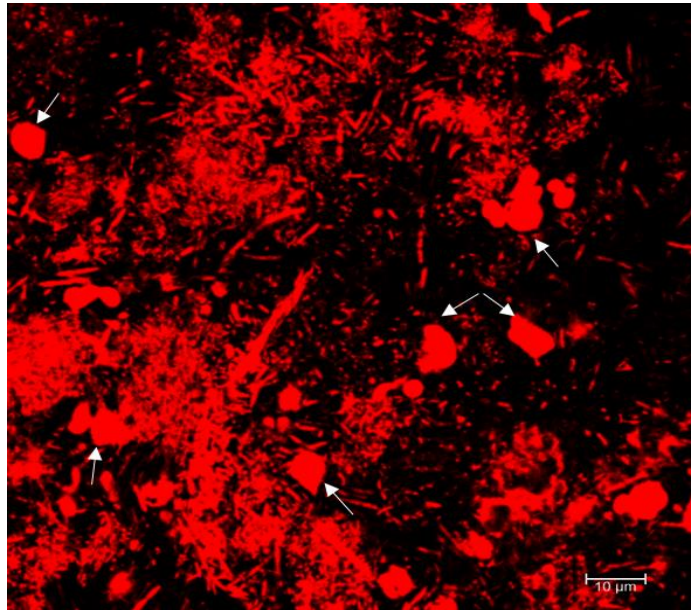


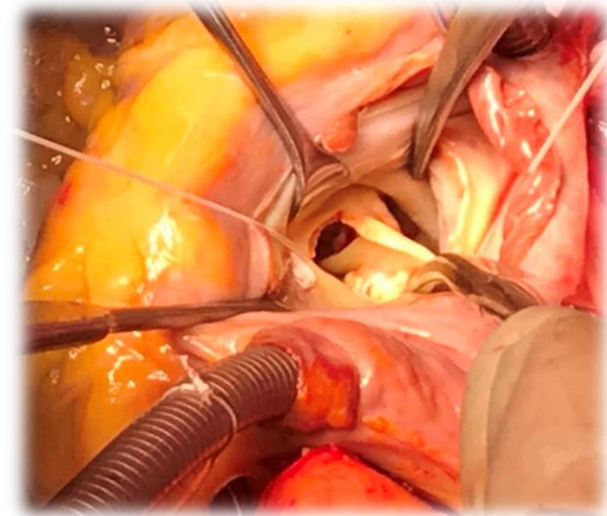
Рис.2. фарбування бромістим етидієм. Даний біофільм є чинником сильного хронічного запального процесу, який супроводжується значною кількістю лейкоцитів (відмічено білими стрілками) та вивільненням фібрину (жовті стрілки). КЛСМ.

Встановлено особливості взаємодії пародонтопатогенів з епітелієм пародонтальних карманів, що спричинює імуно-запальну реакцію в тканинах пародонта, стимулює активацію нейтрофільних позаклітинних пасток, які посилюють системні запальні процеси. Наявність великої кількості полімеризованих волокон фібрину в пародонтальних карманах є наслідком мікроциркуляторних розладів у разі порушення клінічного прикріплення ясен, що також посилює множення анаеробної бактерії *Porphyromonas gingivalis* у наслідок її фібриногено – й фібринолітичної активності.

За даними літературних джерел *Porphyromonas gingivalis* здатна призвести до адгезії та агрегації тромбоцитів, що може бути однією з основних причин розвитку й прогресування тромбозу кровоносних судин.

# Клініко-лабораторні дослідження

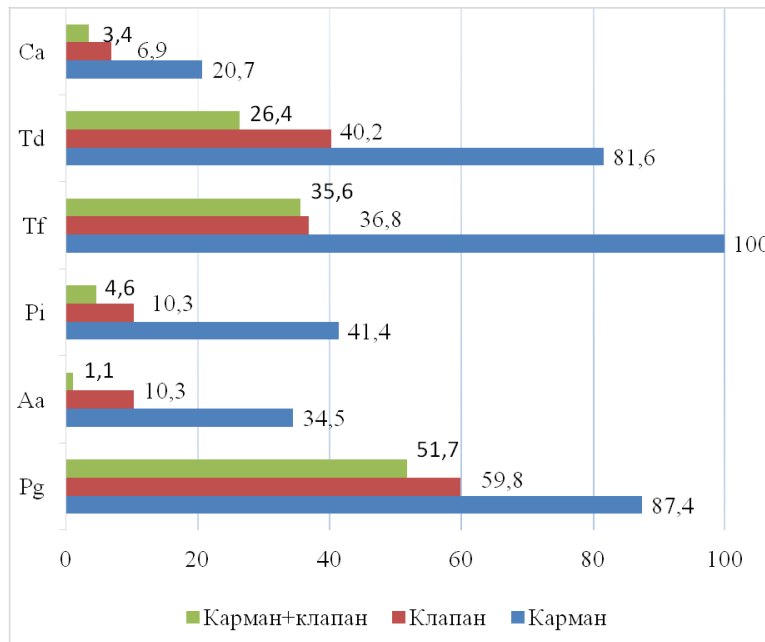
## Поширеність основних пародонтопатогенних мікроорганізмів на видалених клапанах серця



У ході клініко-лабораторних досліджень уперше встановлено взаємозв'язок мікробіому ротової порожнини та набутих вад серця: визначено кореляційну залежність мікробіоти пародонтальних карманів та біологічного матеріалу (видалених аортального й мітрального клапанів серця).

## Клініко-лабораторні дослідження

### Порівняльний аналіз мікробного пейзажу вмісту пародонтального карману і біологічного матеріалу ( видалений клапан серця )



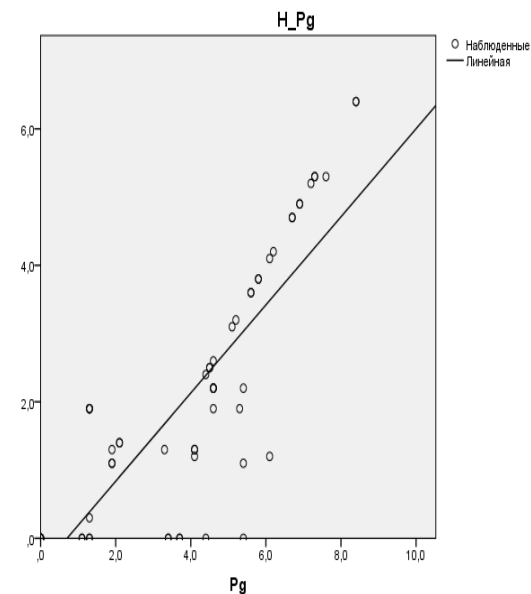
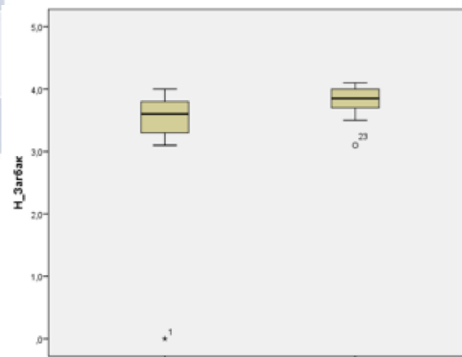
- Результати мікробіологічного дослідження вмісту пародонтальних карманів і біологічного матеріалу із застосуванням ПЛР у реальному часі свідчать про високий ризик гематогенного шляху поширення основних пародонтопатогенів з їх подальшою колонізацією на поверхні клапанів серця.
- Пародонтопатогенний мікроорганізм *Porphyromonas gingivalis* найчастіше виявляли як у пародонтальних карманах ( $86,7 \pm 12,4$  %), так й і у клапанах серця ( $60,0 \pm 17,8$  % ( $p < 0,01$ )), що негативно впливає на перебіг серцево-судинних захворювань і може посилювати серцеву недостатність.



# Клініко-лабораторні дослідження

## Рівень бактеріального обсіменіння на видалених клапанах серця

Мікроорганізм	Загострений перебіг Me (IQR)	Хронічний Перебіг Me (IQR)	рівень значущості відмінностей p
Загальне бактеріальне обсіменіння, Lg	3,85(3,65 – 4,03)	3,6( 3,3 – 3,83)	0,04
<i>P. gingivalis</i> , Lg	1,10( 0,00 – 1,97)	1,25(0,00 – 1,90)	0,02
<i>T. forsythensis</i> , Lg	0,00(0,00 – 0,14)	0,00 (0,00 – 0,00)	0,795
<i>T. denticola</i> , Lg	0,00(0,00 – 1,10)	0,00 (0,00 – 0,00)	0,734
<i>P. intermedia</i> , Lg		0,00 (0,00 – 0,00)	0,984
<i>A. actinomycetemcomitans</i> , Lg	0,00 (0,00 – 0,00)	0,00 (0,00 – 0,00)	0,984
<i>Candida albicans</i> , Lg	0,00 (0,00 – 0,00)	0,00 (0,00 – 0,00)	0,857

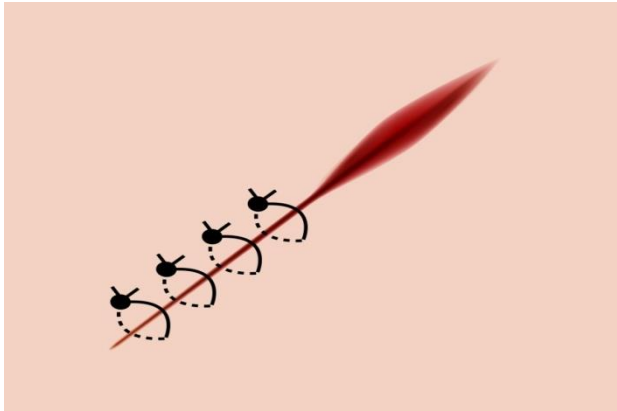


Використання регресійного математичного аналізу для оцінювання результатів клінічних досліджень дало змогу встановити, що в разі загострення генералізованого пародонтиту відбувається значне обсіменіння пародонтальних карманів пародонтопатогеном *Porphyromonas gingivalis* і це зумовлює високий ступінь колонізації клапанів у хворих з набутими вадами серця ( $p \leq 0,001$ ). На підставі математичних методів аналізу це обґрунтовує необхідність застосування системної антибіотикотерапії та місцевих протимікробних препаратів з пролонгованою дією в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту.

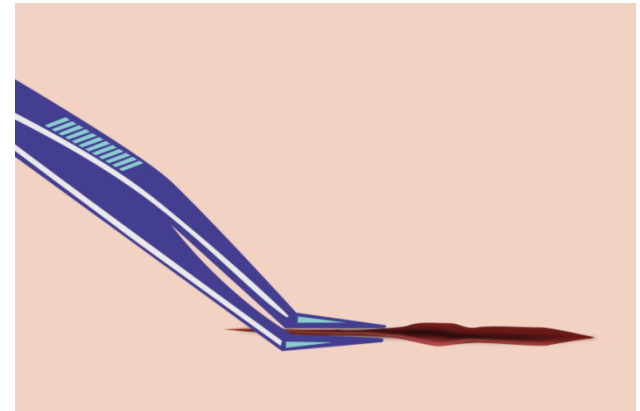
## Розподіл експериментальних тварин за групами досліджень і термінам спостереження

№ групи	Термін спостереження		Кількість тварин
	7 діб	14 діб	
контрольна група	3	0	3
група 1 – вузловий шов	6	6	12
група 2 – зварювання м'яких тканин (ПАТОНМЕД ЕКВЗ-300)	6	6	12
Всього	15	12	27

## Схеми закриття операційних ран у дослідних групах



**Закриття операційної рани  
вузловими швами**

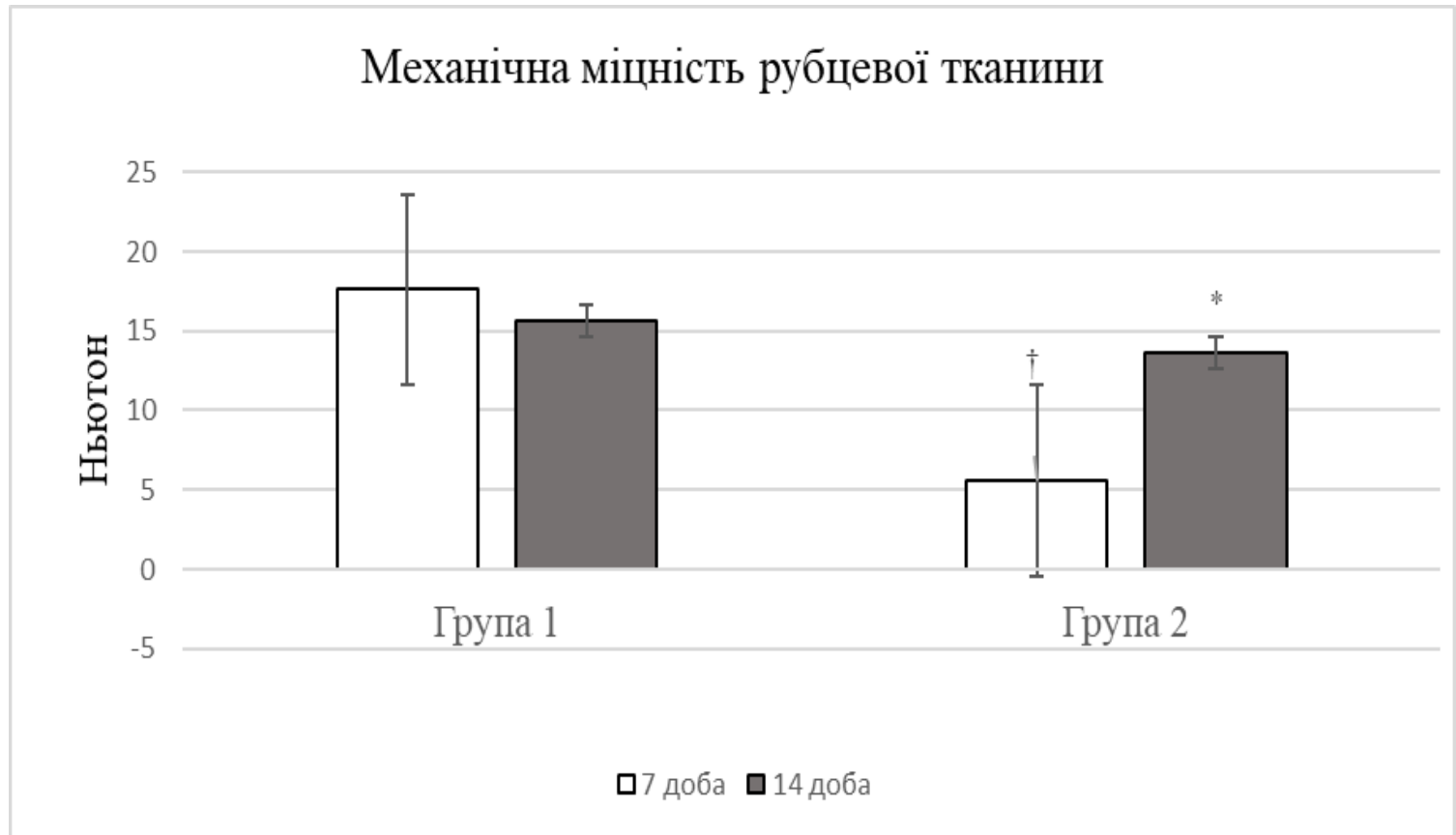


**Закриття операційної рани шляхом  
зварювання м'яких тканин  
електрокоагулятором ПАТОНМЕД  
ЕКВЗ-300**



**Прилад для зварювання живих  
тканин ПАТОНМЕД ЕКВЗ-300.**

## Результати динамометрії зразків шкіри зі з'єднанням країв рани різними способами (M±m)



Позитивна динаміка зростання міцності шва рани на 14 добу експерименту. Примітка: \* -  $P < 0,05$  щодо 7 доби; † -  $P < 0,05$  щодо групи 1 (у межах одного терміну спостереження)

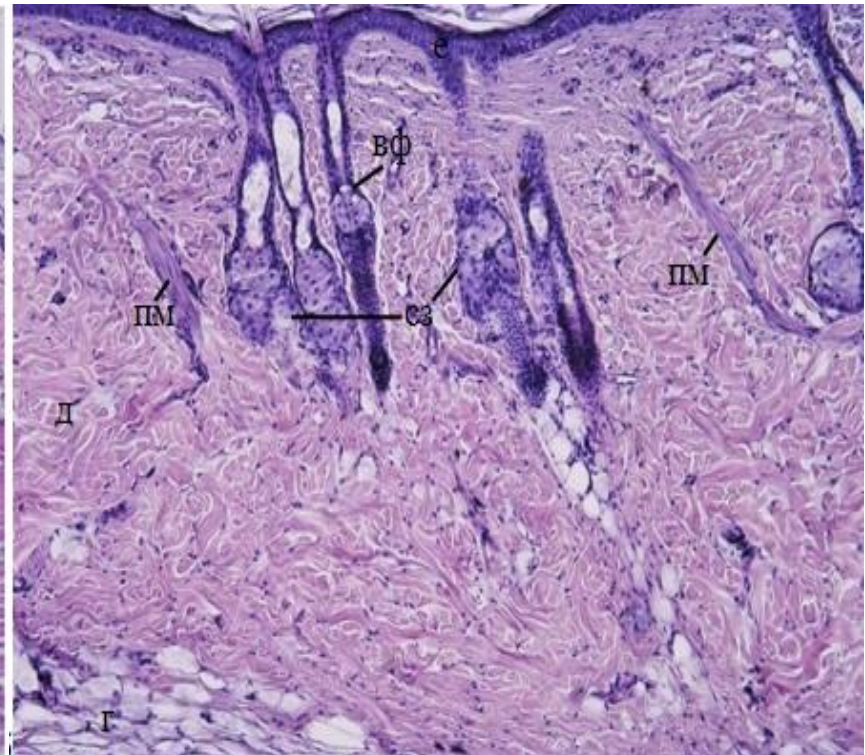
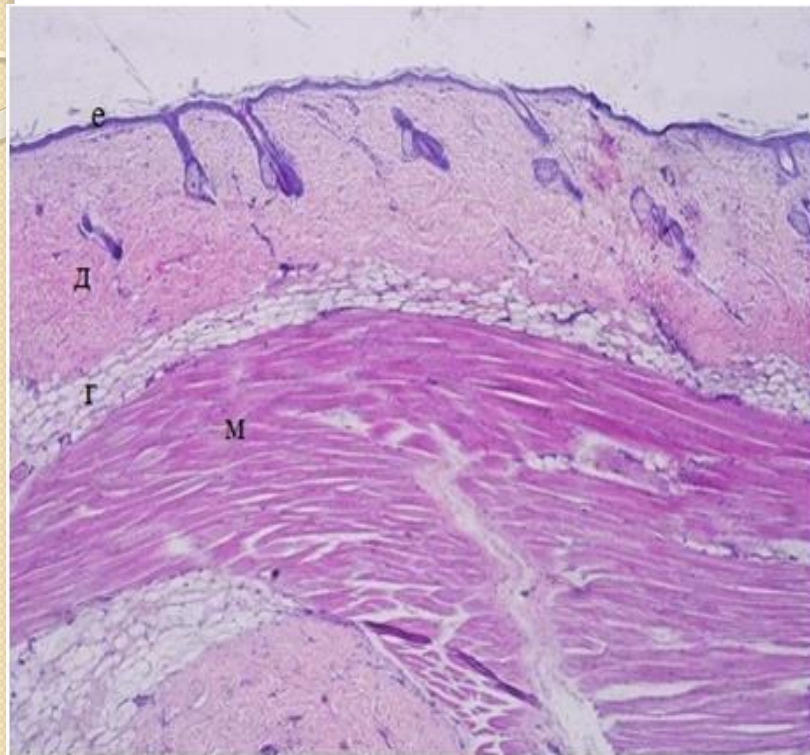


# Біомеханічні характеристики рани, що загоюється, за результатами динамометрії

Показник  Група	Середня міцність рани на розрив Me (Q1-Q3)		Дисперсія ( $\sigma$ )	
	7 доба	14 доба	7 доба	14 доба
група 1 вузловий шов	17,6 (15,0-20,1)*	15,6 (12,2-19,5)	4,0	5,3
група 2 зварювання м'яких тканин	5,6 (2,5-17,0)†	13,6 (10,9-16,2)*	31,6	3,7

Примітка: \* -  $P < 0,05$  щодо 7 доби; † -  $P < 0,05$  щодо групи 1 (у межах одного терміну спостереження)

# Інтактна шкіра щурів контрольної групи



Примітка: е – епідерміс; д – дерма; г – гіподерма; м – м'язова тканина; вф – волосяний фолікул; сз – сальна залоза; пм – піломоторний м'яз. Гематоксилін-еозин, а: об. 4, ок. 10; б: об. 10, ок. 10.

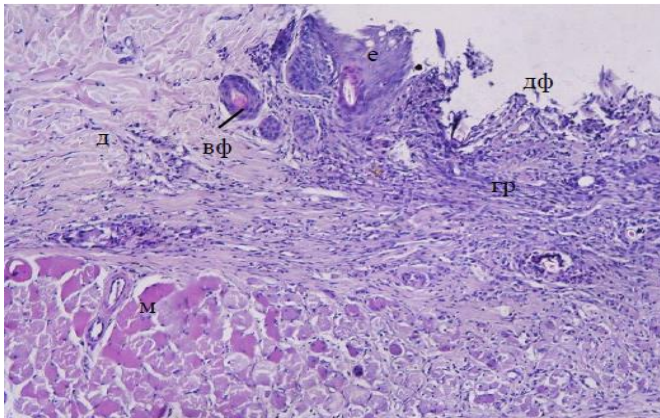
# Результати морфометрії ділянки шкіри щурів на рівні шва (ширина ділянки грануляційної тканини)

Показник	Зона грануляційної тканини, мкм					
	7 доба			14 доба		
	М±m	Me (Q1-Q3)	$\sigma(\times 10^3)$	М±m	Me (Q1-Q3)	$\sigma(\times 10^3)$
контроль	-					
група 1 вузловий шов	800,1±106,1	1023,2 (683,9-1367,6)	4,8	897,3±100,3	890,3 (666,5-1101,9)	8,0
група 2 ПАТОНМЕД	908,5±79,7	939,4 (515,9-1201,9)	140,0	1045,4±95,1	1013,2 (833,9-1224,9)	72,4

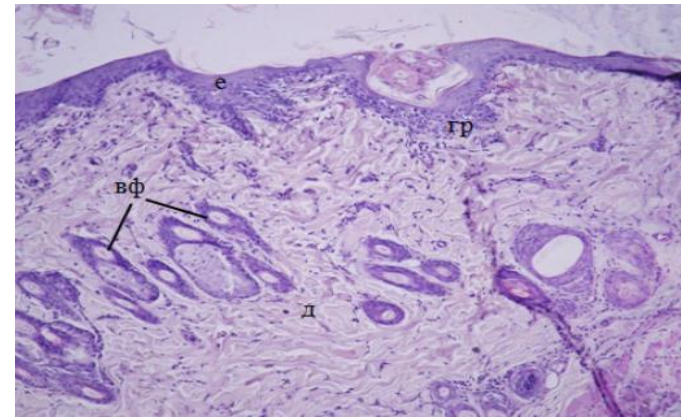
# Результати морфометрії дефекту шкіри

Показник Група	Глибина грануляційної тканини, мкм					
	7 доба			14 доба		
	$M \pm m$	$Me$ (Q1-Q3)	$\sigma (\times 10^3)$	$M \pm m$	$Me$ (Q1-Q3)	$\sigma (\times 10^3)$
контроль	-					
група 1 вузловий шов	621,9±69,3	610,4 (485,0- 731,4)	28,8	640,3±66,4§	622,4 (513,3- 755,5)	26,5

## Шкіра щурів на рівні операційної рани, 1 група



7 доба



14 доба

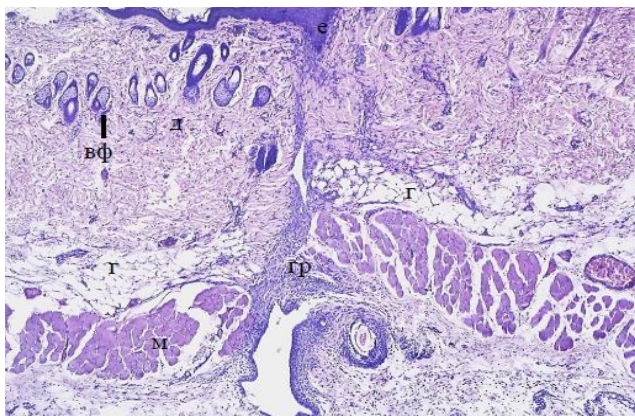
Примітка: е – епідерміс; д – дерма; дф – дефект шкіри; гр – грануляційна тканина; м – м'язова тканина; вф – волосяний фолікул. Гематоксилін-еозин, а: об. 10, ок. 10



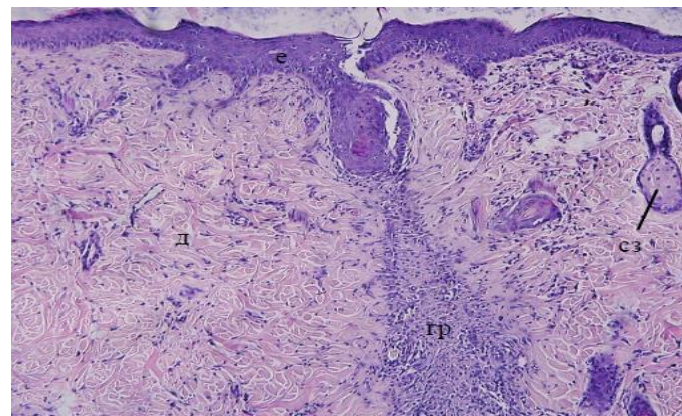
# Результати морфометрії дефекту шкіри

Показник	Глибина грануляційної тканини, мкм					
	7 доба			14 доба		
	$M \pm m$	$Me$ (Q1-Q3)	$\sigma (\times 10^3)$	$M \pm m$	$Me$ (Q1-Q3)	$\sigma (\times 10^3)$
Група 2, електро- зварювання ПАТОНМЕД	697,5±21,3	681,6 (654,7- 742,8)	2,7	948,6±40,3	933,5 (871,5- 1017,0)	9,7

## Шкіра щурів на рівні операційної рани, 2 група



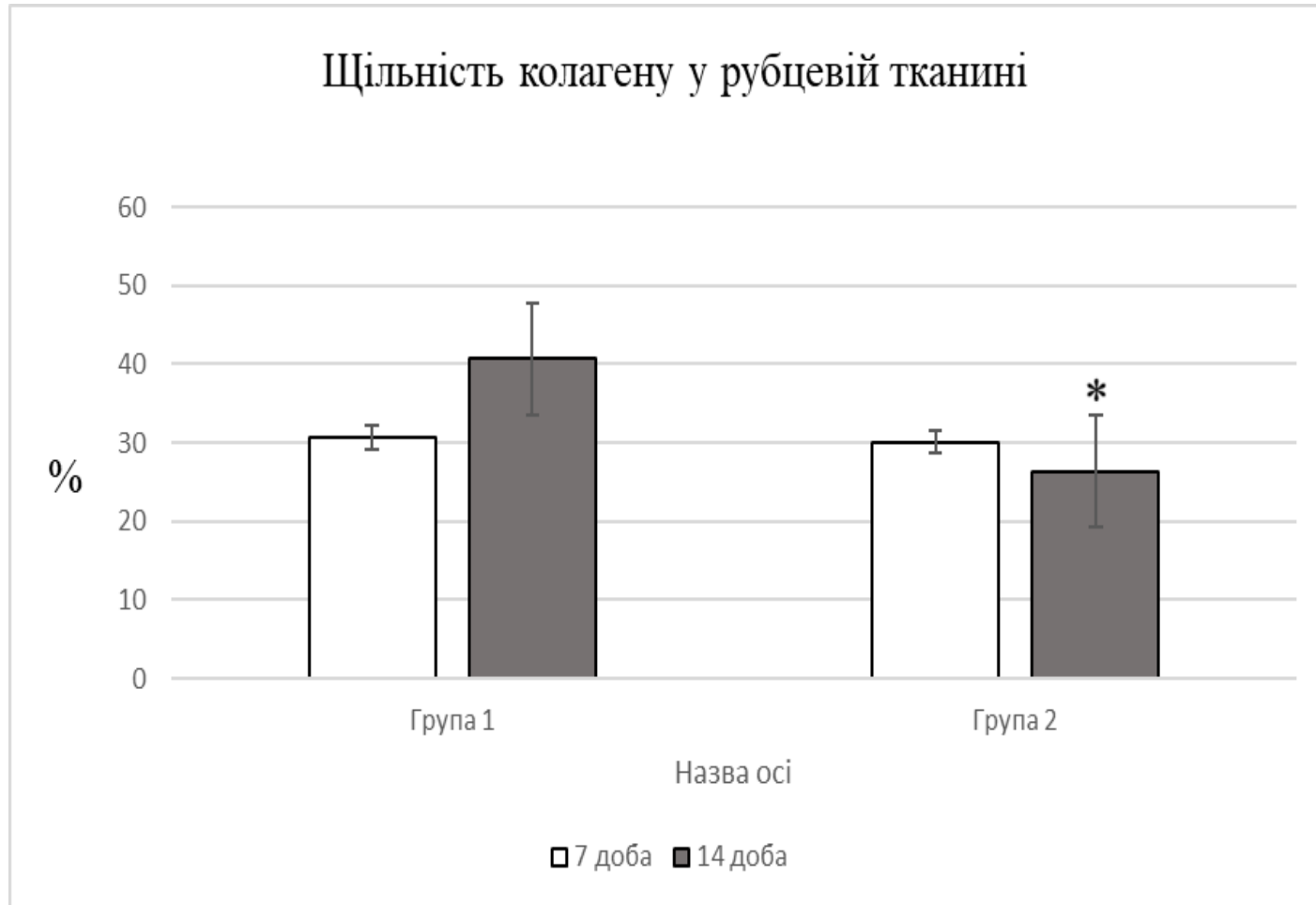
7 доба



14 доба

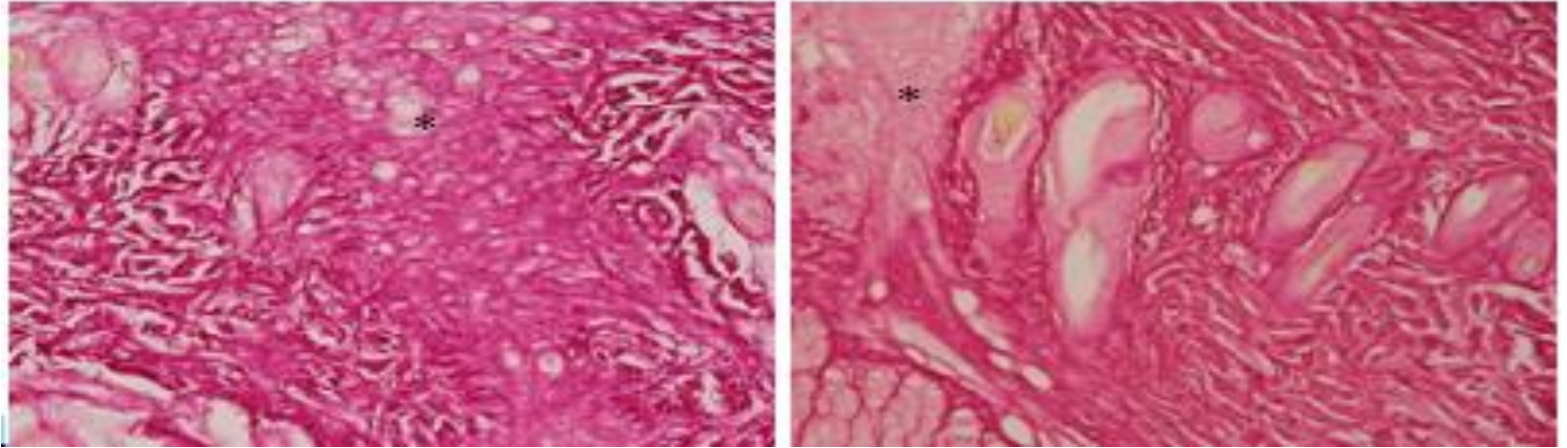
Примітка: е – епідерміс; д – дерма; дф – дефект шкіри; гр – грануляційна тканина; м – м'язова тканина; вф – волосяний фолікул. Гематоксилін-еозин, а: об. 10, ок. 10

# Результати кількісного вимірювання щільності колагену у дермі на рівні пошкодження



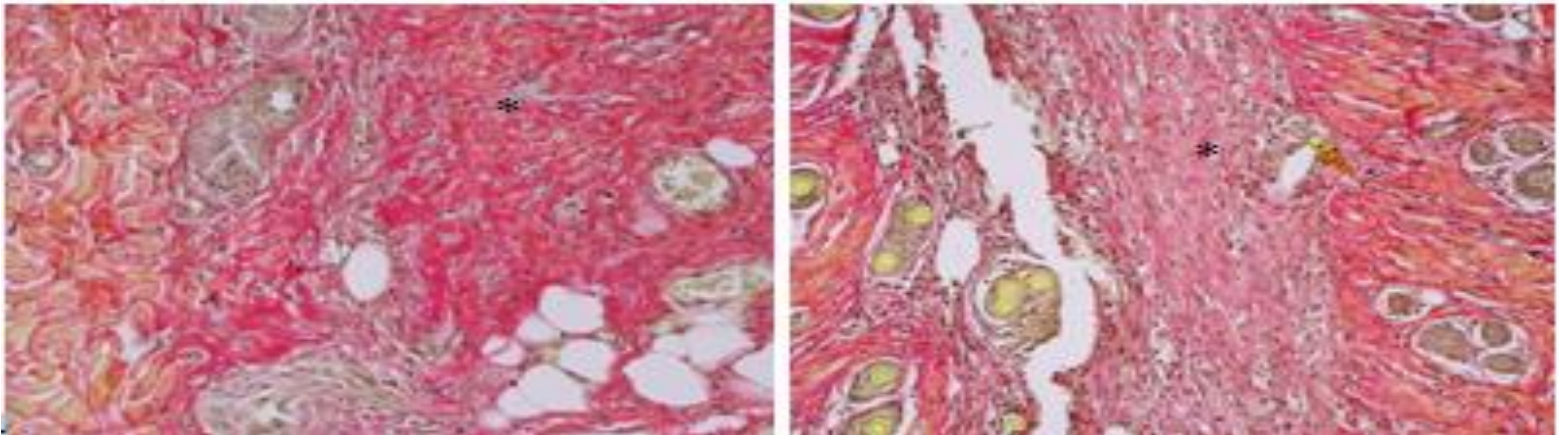
Дані презентують % колагену у площі досліджених регіонів ( $M \pm m$ ). Примітка: † -  $P < 0,05$  щодо контролю; \* -  $P < 0,05$  щодо групи 1 (у межах одного терміну спостереження)

## Морфологічна організація колагенових волокон у дермі, група 1



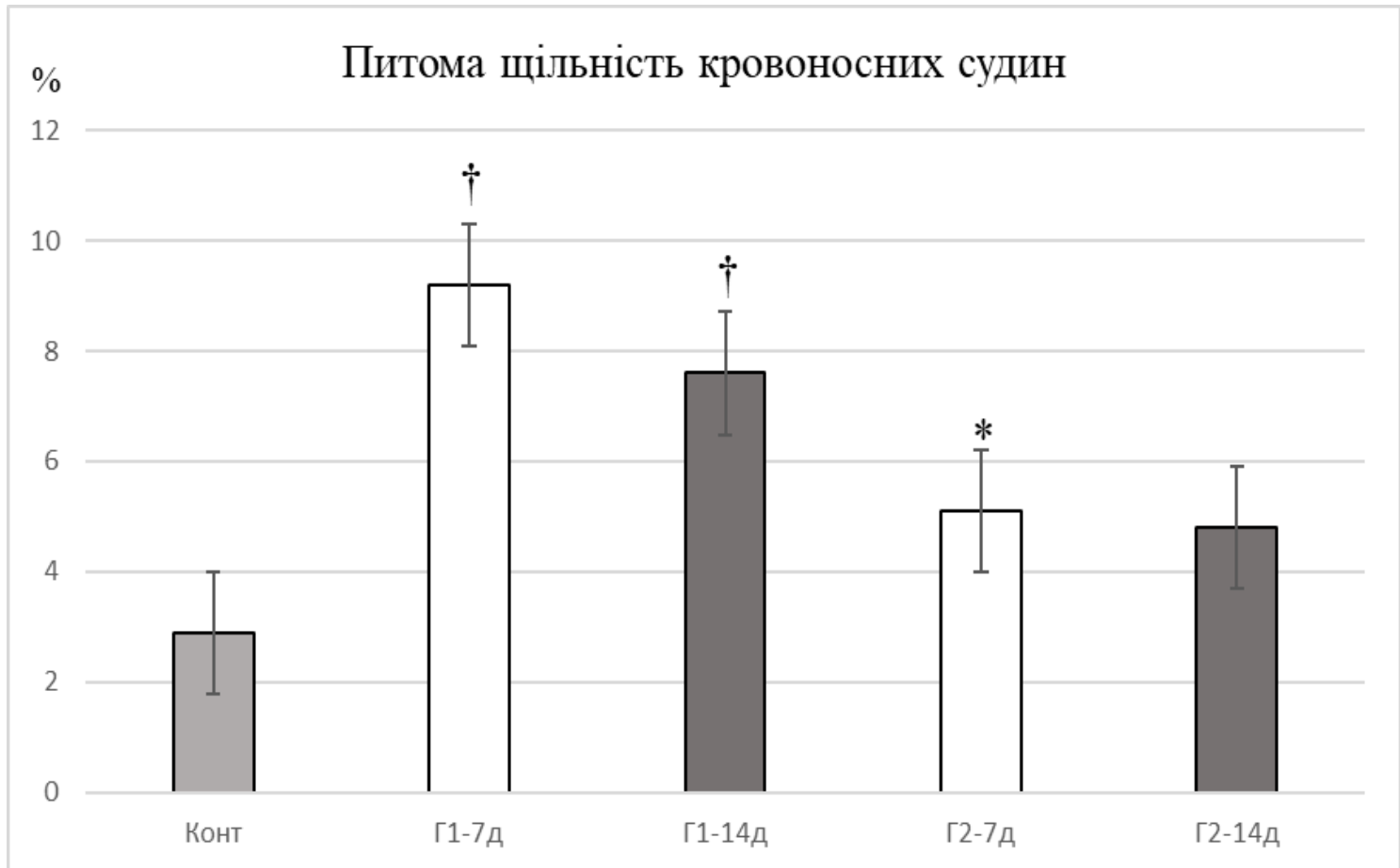
Примітка: мікрофото зліва – 7 доба; мікрофото справа – 14 доба. Гістохімічне забарвлення колагену Червоний сіріус, пікринова кислота, гематоксилін Вейгерта. Об. 10, ок. 10

## Морфологічна організація колагенових волокон у дермі, група 2



Примітка: мікрофото зліва – 7 доба; мікрофото справа – 14 доба. Гістохімічне забарвлення колагену Червоний сіріус, пікринова кислота, гематоксилін Вейгерта. Об. 10, ок. 10

## Питома щільність кровоносних судин у грануляційній тканині ( $M \pm m$ )



Примітка: † -  $P < 0,05$  щодо контролю; \* -  $P < 0,05$  щодо групи 1.



# Висновки

1. Мікробіом ротової порожнини – це спеціалізована бактеріальна екосистема, що забезпечує життєздатність мікроорганізмів, які входять до її складу, тим самим зумовлюючи збільшення загальної популяції; з часом видовий склад біоплівки змінюється.
2. Бактерії в біоплівці впливають на системну запальну реакцію – стимуляція активності позаклітинних нейтрофільних пасток посилює запальні процеси.
3. Наявність великої кількості полімеризованих волокон фібрину в пародонтальних карманах є наслідком мікроциркуляторних розладів у разі порушення клінічного прикріплення ясен, що також посилює розмноження анаеробної бактерії *Porphyromonas gingivalis* у наслідок її фібриногено - й фібринолітичної активності.
4. Результати молекулярно-генетичного дослідження продемонстрували одночасну наявність основних пародонтопатогенів у пародонтальних карманах і на поверхні видалених клапанів у пацієнтів з набутими вадами серця: *Pg* – у 51,7% хворих (45), *Tf* – у 35,6% (31), *Td* – у 26,4% хворих(23); *Aa* в 34,5 % випадків ідентифікували у пародонтальних карманах, але на клапанах серця він не був виявлений; *Pi* – у 4,6 % випадків, що свідчить про високий ризик гематогенного поширення основних пародонтопатогенів з подальшою їх колонізацією на поверхні клапанів серця.
5. У хворих із загостреним перебігом генералізованого пародонтиту зареєстровано достовірно вищий ступінь обсіменіння пародонтальних карманів, що математичними методами аналізу обґрунтовує необхідність застосування системно антибіотикотерапію в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту.

6. Товщина епітеліального валу після з'єднання країв рани електрозварюванням мала тенденцію до росту порівняно з ранами, закритими вузловими швами. На 7 добу після операції щільність новоутвореного колагену у рубцевій тканині не відрізнялася між групами, а на 14 добу зростала після вузлових швів і була достовірно більшою порівняно з електрозварюванням у 1,5 ( $p < 0,01$ ) рази, що свідчить про позитивні відмінності використання методу електрозварювання в порівнянні з використанням вузлових швів.

7. Ангіоархітектоніка рубцевої тканини характеризувалася більшою питомою щільністю кровоносних судин у групі з вузловими швами порівняно з електрозварюванням в середньому на 1,7-2,0 рази ( $p < 0,05$ ) на 7 добу та 1,4-1,9 рази ( $p < 0,05$ ) на 14 добу, що свідчить про меншу інтенсивність запальної реакції при використанні методу електрозварювання.

8. Механічна міцність рубцевої тканини на 7 добу після з'єднання країв рани була достовірно вищою у групі з використанням вузлового шва порівняно з електрозварюванням у 3,1 рази ( $p < 0,01$ ). На 14 добу сила розриву ран з'єднаних вузловими швами не змінилася, а групі з використанням електрозварювання – досягла показника вузлового шва.

9. При закритті операційних ран шкіри необхідно враховувати розміщення рани по відношенню до ліній натягу шкіри та натяг країв рани. Рани, що проходять перпендикулярно до ліній натягу шкіри або знаходяться в анатомічних ділянках з активною мімікою, раціонально закривати вузловим швом. Рани, які розміщені паралельно лініям натягу шкіри або розташовані в анатомічних ділянках з мінімальною мімічною активністю доцільно закривати методом електрозварювання.



## Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика



### Колектив авторів циклу робіт



**Слободяник-Коломоєць Мар'яна Володимирівна, к.мед.н., асистент кафедри терапевтичної стоматології НУОЗ України імені П.Л. Шупика.**

У цикл робіт включено 31 друковану працю, з них 20 статей у наукових фахових виданнях України, 3 статті в зарубіжних виданнях, 10 – у тезах та збірниках науково - практичних конференцій.

Згідно з даними бази Google Scholar, загальна кількість посилань на публікації за темою роботи – 75, h-індекс 6



**Жураковська Галина Василівна, к.мед.н., асистент кафедри хірургічної стоматології Національного медичного університету імені О. О.Богомольця**