

*Вишневская А.А.,**к. мед. н.**Шнайдер С.А.**д. мед. н.**Государственное учреждение «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Национальной академии медицинских наук Украины»*[DOI: 10.24411/2520-6990-2020-12123](https://doi.org/10.24411/2520-6990-2020-12123)

## ЛОКАЛЬНАЯ МЕТОДИКА ВВЕДЕНИЯ ПЛАЗМОГЕЛЯ ИЗ ТРОМБОЦИТАРНОЙ АУТОПЛАЗМЫ И ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У КРЫС

*Vyshnevskaya H.O.,**candidate of medical Sciences**Schneider S.A.**doctor of medicine**State Establishment «The Institute of Stomatology and Maxillo-Facial Surgery National Academy of Medical Science of Ukraine»*

## LOCAL TECHNIQUE FOR THE INTRODUCTION OF PLASMOGEL FROM PLATELET AUTOPLASMA AND HYALURONIC ACID FOR THE TREATMENT OF GENERALIZED PERIODONTITIS IN AN EXPERIMENT IN RATS

### **Аннотация**

В современном мире заболевания пародонта представляют серьезную проблему, которая затрагивает не только вопросы здоровья ротовой полости пациентов, но и общемедицинские проблемы. В научных исследованиях доказано, что механическое удаление зубных отложений и биофильма с поверхности корня эффективно для улучшения клинических показателей, но не всегда гарантирует долгосрочную стабильность результатов лечения.

**Цель исследования.** Оценка влияния плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы, препарата с гиалуроновой кислотой Hyadent BG и комбинации этих препаратов на динамику изменений биохимических показателей содержания гиалуроновой кислоты в гомогенатах десны в эксперименте у крыс.

Полученные результаты исследования показали достаточно высокую эффективность плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы и препарата гиалуроновой кислоты hyaDENT BG, как самостоятельных лечебных средств, при лечении генерализованного пародонтита. Но наиболее выраженные достоверные повышения содержания гиалуроновой кислоты были получены при лечении с использованием комбинации плазмогеля и препарата гиалуроновой кислоты.

### **Abstract**

In the modern world, periodontal disease is a serious problem that affects not only the health of the oral cavity of patients, but also general medical problems. Scientific studies have shown that mechanical removal of dental plaque and biofilm from the root surface is effective for improving clinical performance, but does not always guarantee long-term stability of treatment results.

**Aim research:** to evaluate the effect of a plasma gel from platelet autoplasm, a preparation with hyaluronic acid Hyadent BG and a combination of these preparations on the dynamics of changes in biochemical parameters of the content of hyaluronic acid in gingival homogenates in rats.

The obtained results of the study showed a fairly high efficiency of the plasmogel from platelet autoplasm and the preparation of hyaluronic acid hyaDENT BG as independent therapeutic agents in the treatment of generalized periodontitis. But the most pronounced significant increases in the content of hyaluronic acid were obtained during treatment using a combination of plasmogel and a hyaluronic acid preparation.

**Ключевые слова:** генерализованный пародонтит, лигатурная модель пародонтита, плазмогель, тромбоцитарная аутоплазма, гиалуроновая кислота.

**Keywords:** generalized periodontitis, ligature model of periodontitis, plasmogel, platelet autoplasm, hyaluronic acid.

В современном мире заболевания пародонта представляют серьезную проблему, которая затрагивает не только вопросы здоровья ротовой полости пациентов, но и общемедицинские проблемы. Заболевания пародонта имеют высокую распространенность и интенсивность, тяжелые варианты течения и могут приводить к серьезным послед-

ствиям в виде утраты зубов. На первом месте по частоте встречаемости находится генерализованный пародонтит (ГП), который, является полиэтиологическим заболеванием, важная роль отводится микробному фактору и комплексу патологических воспалительно-дистрофических процессов, которые повреждают ткани пародонта.

Среди известных методов лечения основным является механическое удаление зубных отложений и биофильма с поверхности корня (сглаживание поверхности корней, закрытый кюретаж). В научных исследованиях доказано, что данные процедуры эффективны для улучшения клинических показателей, но не всегда гарантируют долгосрочную стабильность [1]. А также результаты этой терапии часто непредсказуемы и зависят от множества различных факторов [2].

Поэтому в современной стоматологии продолжается активный поиск дополнительных методов лечения ГП для восстановления тканей пародонта и перехода заболевания в стойкую ремиссию. Для этого активно начали использовать такие биоактивные препараты как гиалуроновая кислота (ГК) и тромбоцитарные факторы роста. Гиалуроновая кислота – это молекула гликозаминогликана, обладающая противовоспалительным и противоотечным действием на ткани пародонта, пораженные субмикробной флорой. Она ускоряет заживление ран и ускоряет восстановление и регенерацию пародонта [3, 4]. В ряде проведенных исследований по применению ГК в стоматологии были получены противовоспалительные и антибактериальные эффекты лечения.

Концентраты тромбоцитов определяются как аутологичные или аллогенные производные тромбоцитов. Тромбоцитарные факторы роста широко используются в различных областях регенеративной медицины для ускорения процессов заживления ран и улучшения ангиогенеза [5].

Целью данного исследования является оценка влияния плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы, препарата с гиалуроновой кислотой Hyadent BG и комбинации этих препаратов на динамику изменений биохимических показателей содержания гиалуроновой кислоты в гомогенатах десны в эксперименте у крыс.

**Материалы и методы исследования.** Для экспериментального исследования было использовано 50 белых крыс линии Вистар стадного разведения, обоего пола, 2,5 – 3 месячного возраста, весом 250-300г. Все животные находились на стандартном рационе вивария. Животные были разделены на 5 групп по 10 животных в каждой.

Первая группа (n=10, 5 самцов и 5 самок) являлась контрольной для оценки здоровых показателей животных.

Всем животным 2,3,4 и 5 групп моделировали пародонтит при помощи лигатурной модели, путем наложения лигатуры на резец верхней челюсти в области десневой борозды на протяжении 14 дней. Через 14 дней всем животным лигатуры снимали и проводили лечение [6].

Во второй группе (n=10, 5 самцов и 5 самок) после снятия лигатур производили обработку десны марлевым тампоном смоченным 0,9 % раствором NaCl, 2 раза с интервалом в 7 дней.

В третьей группе (n=10, 5 самцов и 5 самок) лечение проводили нанесением на десну плазмогеля

из тромбоцитарной аутоплазмы, 2 раза с интервалом в 7 дней. Плазмогель получали по следующей схеме: производили забор крови у каждой крысы из хвостовой вены в количестве 2 мл, кровь собирали в пробирку с 0,2 мл раствора гепарина, центрифугировали на скорости 1000 об./мин. в течение 5 минут, полученную фракцию плазмы из пробирки отбирали шприцом, который помещали в термостат TDB-120 для приготовления плазмогеля, при температуре +80°C в течение 7 минут, охлаждали при комнатной температуре в течение 10 минут и нанесли на область патологически измененных тканей, закрывали пародонтальной повязкой Reso-Pac, на 6 часов до самостоятельного рассасывания пародонтальной повязки.

В четвертой группе (n=10, 5 самцов и 5 самок) с лечебной целью наносили препарат ГК на десну в виде аппликаций по 0,2 г., 2 раза с интервалом в 7 дней. Используемый препарат hyaDENT BG, гель вязко эластический на основе гиалуроновой кислоты. В состав которого входят: гиалуроновой кислоты – 2 мг, кросс-связанной гиалуроновой кислоты – 16 мг, натрия хлорид – 6,9 мг и вода для инъекций до – 1,0 мг. Производитель: BioScience GmbH, Германия. Сертификат соответствия № UA.TR.039.343, дата выдачи –18.04.2018 г.

В пятой группе (n=10, 5 самцов и 5 самок) после снятия лигатур проводили лечение с использованием комбинации плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы и препарата с ГК. С начала применяли плазмогель по методике описанной в третьей группе животных, а через день после плазмогеля применяли препарат ГК в виде аппликаций как описано в четвертой группе животных. Интервалы между введениями обоих препаратов составляли 7 дней.

С целью изучения динамики изменения содержания ГК после лечения плазмогелем, препаратом с ГК и комбинированной методики их применения экспериментальные животные выводились из эксперимента в 2 срока. Крыс подгрупп 1а, 2а, 3а, 4а и 5а выводили из эксперимента на следующий день после второго введения. Крысам подгруппы 1б, 2б, 3б, 4б и 5б проводили эвтаназию через 3 недели после второго введения.

Животных выводили из эксперимента под тиопенталовым наркозом (20мг/кг) и производили забор биоптатов десны для дальнейших биохимических исследований.

Биохимическими методами в гомогенатах десны крыс определяли содержание ГК [7].

Обработку результатов проводили вариационно-статистическими методами анализа на персональном компьютере IBM PC в SPSS SigmaStat 3.0 и StatSoft Statistica 6.0. [8]

**Результаты и их обсуждение.** В таблице 1 представлены результаты исследования влияния плазмогеля, ГК и комплекса препаратов на содержание ГК в гомогенатах десны у крыс.

**Влияние плазмогеля и препарата гиалуроновой кислоты hyaDENT BG на содержание гиалуроновой кислоты в гомогенатах десны крыс (20 мг/мл 0,05 М трис-HCl, pH 7,5) (M±m), (n=5)**

Группы	Показатели	Пол	Содержание гиалуроновой кислоты, г/кг	
			1 срок (а)	2 срок (б)
Группа 1 (контроль)		самки	8,60±0,24	8,79±0,27
		самцы	8,40±0,28	8,45±0,36
Группа 2 Модель (контроль)		самки	4,82±0,23 p < 0,001	2,84±0,15 p < 0,001 p <sub>4</sub> < 0,001
		самцы	4,0±0,20 p < 0,001	2,96±0,18 p < 0,001 p <sub>4</sub> < 0,002
Группа 3 Модель + плазмгель		самки	5,62±0,12 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,002	7,0±0,42 p < 0,002 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>4</sub> < 0,002
		самцы	5,30±0,28 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,001	6,84±0,35 p < 0,002 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>4</sub> < 0,002
Группа 4 Модель + ГК		самки	6,0±0,18 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> > 0,1	7,86±0,35 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> > 0,2 p <sub>4</sub> < 0,002
		самцы	5,90±0,22 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> > 0,1	7,45±0,48 p > 0,1 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> > 0,3 p <sub>4</sub> < 0,001
Группа 5 Модель + плазмгель + ГК		самки	6,67±0,38 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> < 0,02 p <sub>3</sub> > 0,2	8,56±0,50 p > 0,6 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> < 0,02 p <sub>3</sub> > 0,3 p <sub>4</sub> < 0,001
		самцы	6,42±0,35 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> < 0,102 p <sub>3</sub> > 0,25	8,0±0,45 p > 0,6 p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> < 0,02 p <sub>3</sub> > 0,5 p <sub>4</sub> < 0,001

Примечание.

p – показатель достоверности отличий от группы 1 (контроль)

P1 – достоверность отличий от 2 группы

P2 – достоверность отличий от 3 группы

P3 – достоверность отличий от 4 группы

P4 – достоверность отличий между 1 и 2 сроком

По результатам проведенных исследований установлено, что лигатурная модель пародонтита приводит к резкому снижению содержания ГК в гомогенатах десны. Во 2-й группе на первом сроке показатели составили у самок 4,82±0,23 г/кг, у самцов 4,0±0,20 г/кг по сравнению с группой интактных животных, у самок – 8,60±0,24 г/кг, у самцов – 8,40±0,28 г/кг, p < 0,001. Во втором сроке, через 3 недели показатель продолжал снижаться и составил у самок 2,84±0,15 г/кг, у самцов 2,96±0,18 г/кг, при сравнении с группой интактных животных, у самок – 8,79±0,27 г/кг, у самцов – 8,45±0,36 г/кг, p < 0,001.

Установлено, что при применении для лечения плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы отмечается повышение содержания ГК в первом сроке по сравнению со второй группой с 4,82±0,23 г/кг до 5,62±0,12 г/кг, p<sub>1</sub> < 0,002 – у самок и с 4,0±0,20 г/кг до 5,30±0,28 г/кг, p<sub>1</sub> < 0,001 – у самцов. Во втором сроке, разница между группой с лигатурной моделью пародонтита без лечения и группой, где лечение проводилось плазмогелем, стала еще более выраженной и составила с 2,84±0,15 г/кг до 7,0±0,42 г/кг, p<sub>1</sub> < 0,001 – у самок, и с 2,96±0,18 г/кг до 6,84±0,35 г/кг, p<sub>1</sub> < 0,001 – у самцов. Что позволяет предположить, что плазмгель способствует выработке в тканях десны собственной ГК.

В четвертой группе содержание ГК имело тенденцию к увеличению по сравнению с 3-й группой с  $5,62 \pm 0,12$  г/кг до  $6,0 \pm 0,18$  г/кг,  $p > 0,1$  – у самок, с  $5,30 \pm 0,28$  г/кг до  $5,90 \pm 0,22$  г/кг,  $p > 0,1$  – у самцов на первом сроке лечения. И на втором сроке с  $7,0 \pm 0,42$  г/кг до  $7,86 \pm 0,35$  г/кг,  $p > 0,2$  – у самок, и с  $6,84 \pm 0,35$  г/кг до  $7,45 \pm 0,48$  г/кг,  $p > 0,3$  – у самцов. Такие показатели логичны, так как для лечения в этой группе применяли препарат с высоким содержанием ГК.

В гомогенатах десны 5-й опытной группы содержание ГК так же повышалось и в первом, и во втором сроках. Но в этой группе во втором сроке показатель практически достиг уровня нормы, при сравнении с группой интактных животных. И составил у самок –  $8,56 \pm 0,50$  г/кг и у самцов –  $8,0 \pm 0,45$  г/кг,  $p > 0,6$ . Что говорит, о потенцировании эффектов при комбинированном применении препарата плазмогель и препарата с содержанием гиалуроновой кислоты.

При сравнении отличий лечения между первым и вторым сроком, были получены достоверные различия, так во всех группах, где проводилось лечение, во втором сроке содержание ГК возрастает. А в группе с моделью пародонтита без лечения, показатель резко снижается,  $p < 0,001$ , что говорит о прогрессировании дистрофического процесса и снижении ресурса тканей десны для регенеративных процессов. В группе интактных животных разница в содержании ГК между первым и вторым сроком отсутствовала.

При сравнении содержания ГК во всех группах с проведенным лечением между самцами и самками достоверных различий не выявлено, но присутствует тенденция к более высокому содержанию ГК у самок, что позволяет предположить, что регенеративный потенциал выше у самок, чем у самцов.

**Выводы.** Полученные результаты исследования показали достаточно высокую эффективность плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы и препарата гиалуроновой кислоты hyaDENT BG, как самостоятельных лечебных средств, при лечении генерализованного пародонтита. Но наиболее выраженные достоверные повышения содержания гиалуроновой кислоты были получены при лечении

с использованием комбинации плазмогеля и препарата гиалуроновой кислоты. Принимая это во внимание, можно рекомендовать в комплексном лечении генерализованного пародонтита методику комбинированного применения плазмогеля, как аутоматериала и препарата ГК hyaDENT BG для ускорения процесса заживления и повышения регенеративного потенциала тканей пародонта.

#### Список литературы:

1. Wim Teughels, Rutger Dhondt, Christel Dekeyser, Marc Quirynen. Treatment of aggressive periodontitis // *Periodontol* 2000. – 2014 Jun; – №65(1). – P. 107-33. doi: 10.1111/prd.12020.
2. David Herrera, Mariano Sanz, Soren Jepsen, Ian Needleman, Silvia Roldán. A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients // *Journal of Clinical Periodontology*, 01 Jan 2002, 29 Suppl 3:136-59; discussion 160-2 DOI: 10.1034/j.1600-051x.29.s3.8.x
3. Jyotsana Tanwar, Shital A Hungund. Hyaluronic acid: Hope of light to black triangles // *J Int Soc Prev Community Dent.* – 2016. Sep-Oct; – №6(5). – P. 497–500. doi: 10.4103/2231-0762.192948
4. Parveen Dahiya, Reet Kamal. Hyaluronic Acid: a boon in periodontal therapy // *N Am J Med Sci.* – 2013 May; – №5(5). – P.309-15. doi: 10.4103/1947-2714.112473.
5. Andrea Piccin, Angela M Di Pierro, Lucia Canzian, Marco Primerano, Daisy Corvetta, Giovanni Negri, Guido Mazzoleni, Günther Gastl, Michael Steurer, Ivo Gentilini, Klaus Eisendle, Fabrizio Fontanella. Platelet gel: a new therapeutic tool with great potential // *Blood Transfus.* – 2017 Jul; – №15(4). – P.333-340. doi: 10.2450/2016.0038-16.
6. Сукманский О. И. Экспериментальная модель генерализованного пародонтита / О. И. Сукманский, О. А. Макаренко // *Вісник стоматології.* – 2006. – № 2. – С. 2-3.
7. Асатиани В. С. Новые методы биохимической фотометрии / В. С. Асатиани. – М.: Наука, 1965. – С. 298.
8. Юнкеров В. И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В. И. Юнкеров, С. Г. Григорьев. – С.-Пб.: ВмедА, 2002. – 266 с.