

МЕДИЧНІ ПЕРСПЕКТИВИ

MEDIČNI PERSPEKTIVI

2024 Том XXIX № 2

Науковий журнал
Дніпровського державного медичного університету
Виходить 4 рази на рік
Заснований у 1996 році

Адреса редакції

Редакція журналу
«Медичні перспективи»
Дніпровський державний
медичний університет
вул. Володимира Вернадського, 9
м. Дніпро, 49044, Україна

Телефон
+38(050)629-55-58

e-mail:
medpers@dmu.edu.ua
<https://medpers.dmu.edu.ua>

Засновник
Дніпровський державний медичний університет

Ідентифікатор ДДМУ
в Реєстрі суб'єктів у сфері медіа R30-00972

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої
справи до державного реєстру видавців
ДК №7350 від 07.06.2021 р.

Періодичність – 4 рази на рік

Видається згідно з постановою вченої ради
Дніпровського державного
медичного університету
(протокол № 12 від 25.06.2024 р.)

Відповідно до Порядку формування
Переліку наукових фахових видань України,
журналу "Медичні перспективи"
присвоєна категорія "А"
(наказ МОН України № 1188 від 24.09.2020 р.)

Перелік спеціальностей:
222, 221, 225, 226, 227, 228, 229
(наказ МОН України від 15.04.2021 № 420)

Журнал зареєстровано в міжнародних
наукометричних базах та каталогах:
Scopus, ESCI (Web of Science), Crossref,
Ulrich's Periodicals Directory, ProQuest,
EBSCO, DOAJ, MyScienceWork,
ERIH PLUS OCLC WorldCat, MJL,
Dimensions, OpenDOAR, EZB, NLM,
OpenAIRE, Zenodo, BASE, Google Scholar

Підписано до друку 28.06.2024 р.
Формат 60x84/8. Друк офсетний
Папір офсетний. Умовн. друк. арк. 15,4
Зам. № 33. Тираж 500 примірників

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Головний редактор

Т.О. ПЕРЦЕВА

Науковий редактор

В.Й. МАМЧУР

Відповідальний редактор

О.Б. НЕХАНЕВИЧ

Куратори розділів

Теоретична медицина – І.С. Шпонька,
Е.М. Білецька, О.Г. Родинський, О.А. Подплетня
Клінічна медицина – Л.В. Усенко, О.Є. Лоскутов,
В.А. Потабашний, О.О. Гудар'ян, І.Л. Височина,
О.В. Курята, В.О. Потапов, Я.С. Березницький,
В.В. Огоренко
Профілактична та соціальна медицина –
В.М. Лехан, О.А. Шевченко

Склад редакційної ради

К.М. Амосова (Київ), І.М. Бондаренко (Дніпро),
Л.А. Дзяк (Дніпро), З.М. Дубоссарська (Дніпро),
В.М. Коваленко (Київ), Г.М. Кременчуцький
(Дніпро), П. Радд (Великобританія), А.М. Сердюк
(Київ), Ю.М. Степанов (Дніпро), В.П. Стусь
(Дніпро), Ю.І. Фещенко (Київ), І.М. Хоменко
(Київ), Л.Р. Шостакович-Корецька (Дніпро),
Ш. Селл (Німеччина), В. Зіберт (Німеччина),
О. Злотник (Ізраїль), Л. Ростейнг (Франція),
Д.Д. Іванов (Київ), І.М. Григус (Рівне), А. Айдетіс
(Литва), М. Грабовський (Польща), Т.В. Колесник
(Дніпро), Л.І. Конопкіна (Дніпро), О. Брюер
(Бельгія), К.Ю. Гашинова (Дніпро), М. Льор
(Швеція), В. Недзвецький (Туреччина),
К. Ягер (Нідерланди), Д.О. Степанський (Дніпро),
О.П. Крупський (Дніпро), Т.В. Святенко (Дніпро),
Дж. Джордж (Великобританія), Р.Е. Стівенс
(США), А.А. Інджикулян (США), Н. Веронезе
(Італія)

Літературні редактори

М.Ю. Сидора,
І.М. Клименко

Дизайн та оригінал-макет

Л.М. Григорчук

Відповідальний секретар

К.В. Соколова

Макетування та друкування

виконано ВТК "Редактор" та "Друкар" ДДМУ

УДК 616.314-089.843-018-074/076

<https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307615>А.В. Бамбуляк^{1*}, Н.Б. Кузняк¹, Л.Я. Лопушняк¹, І.І. Дроник¹, О.О. Мигаль² 

РЕЗУЛЬТАТИ БІОХІМІЧНИХ ТА ГІСТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ПІСЛЯ ВІДНОВЛЕННЯ КІСТКОВИХ ДЕФЕКТІВ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ КЛІТИННИХ ТЕХНОЛОГІЙ У СТОМАТОЛОГІЧНИХ ПАЦІЄНТІВ

Буковинський державний медичний університет¹

Театральна пл., 2, Чернівці, 58002, Україна

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького²

вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна

Bukovinian State Medical University¹

Teatralna sq., 2, Chernivtsi, 58002, Ukraine

Danylo Halytsky Lviv National Medical University²

Pekarska str., 69, Lviv, 79010, Ukraine

*e-mail: bambuljak.andrij@bsmu.edu.ua

Цитування: Медичні перспективи. 2024. Т. 29, № 2. С. 159-167

Cited: Medicni perspektivi. 2024;29(2):159-167

Ключові слова: мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини, гідроксіапатит, кістковий дефект, пацієнт, стоматологія

Key words: multipotent mesenchymal stromal cells, hydroxyapatite, bone defect, patient, dentistry

Реферат. Результати біохімічних та гістологічних досліджень після відновлення кісткових дефектів із застосуванням клітинних технологій у стоматологічних пацієнтів. Бамбуляк А.В., Кузняк Н.Б., Лопушняк Л.Я., Дроник І.І., Мигаль О.О. Метою дослідження було виявити ефективність застосування остеопластичних матеріалів на основі мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини під час хірургічного лікування з відновлення кісткових дефектів у стоматологічних пацієнтів. Клінічний матеріал ґрунтується на дослідженні 79 пацієнтів, у яких заміщення кісткових дефектів коміркових відростків та/або коміркової частини відповідної щелепи здійснювали за допомогою різних остеопластичних матеріалів та комбінацій чи без їх застосування (контрольна група). Визначення активності кислої фосфатази в ротовій рідині пацієнтів проводили уніфікованим методом по «кінцевій точці». Визначення активності лужної фосфатази в ротовій рідині здійснювали за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна). Індекс мінералізації (ІМ) ротової рідини пацієнтів розраховували за співвідношенням активності ферментів лужної фосфатази (ЛФ) до кислої фосфатази (КФ) за формулою: $ІМ = ЛФ / КФ$. Забір гістологічного матеріалу проводили на етапі установки дентального імплантату. Установлено, що застосування композиції на основі мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини, збагаченої тромбоцитами плазми крові, та заміника кісткової тканини зі вмістом гідроксіапатиту сприяє покращенню регенеративних процесів у кістковій тканині щелеп, що підтверджено зниженням на 28,68% активності кислої фосфатази, підвищенням на 25,97% активності лужної фосфатази в ротовій рідині пацієнтів групи Б та, відповідно, підвищенням на 77,08% співвідношення лужної до кислої фосфатази. За результатами гістологічних досліджень та фазово-контрастної мікроскопії, у пацієнтів групи Б через 6-8 місяців спостереження ділянки дефектів щелеп заповнювалися новоутвореною кістковою тканиною, що була ідентична нативній кістці, а отримані трепанобіоптати мали будову губчастої кістки з остеобластичними елементами, які утворювали ланцюг навколо остеїдної тканини. Таким чином, проаналізувавши отримані результати біохімічних та гістологічних досліджень, установлено, що застосування остеопластичної композиції на основі мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини, заміника кісткової тканини зі вмістом гідроксіапатиту та збагаченої тромбоцитами плазми дозволяє відновлювати кісткові дефекти коміркових відростків та коміркової частини відповідної щелепи в коротші терміни і є оптимальною альтернативою традиційним остеопластичним матеріалам для використання в сучасній стоматологічній практиці та дентальній імплантології.

Abstract. Results of biochemical and histological studies after restoration of bone defects using cellular technologies in dental patients. Bambuliak A.V., Kuzniak N.B., Lopushniak L.Y., Dronyk I.I., Myhal O.O. Objective of the research was to find out the effectiveness of the use of osteoplastic materials based on the multipotent mesenchymal

stromal cells of the adipose tissue during surgical treatment for restoration of bone defects in dental patients. The clinical material included examination of 79 patients who underwent replacement of bone defects of the alveolar processes and/or an alveolar part of the appropriate jaw by means of different osteoplastic materials and their combinations or without their application (the control group). Acid phosphatase activity in the oral fluid of patients was determined by means of the unified "end point" method. Alkaline phosphatase activity in the oral fluid was determined using a set of reagents produced by the company "Filisit-Diagnostika" (Ukraine). Oral fluid mineralization index (MI) of patients was calculated according to the ratio of enzymatic activity of alkaline phosphatase (ALP) to acid phosphatase (AP) according to the formula: $MI = ALP/AP$. Histological material was taken at the stage of installation of a dental implant. It was established that the use of a composition based on multipotent mesenchymal stromal cells of adipose tissue, platelet-enriched blood plasma and bone tissue substitute containing hydroxyapatite contributes to the improvement of regenerative processes in the bone tissue of the jaws, which is confirmed by a 28.68% decrease in acid phosphatase activity, an increase by 25, 97% of alkaline phosphatase activity in the oral fluid of group B patients and, accordingly, a 77.08% increase in the ratio of alkaline to acid phosphatase. According to the results of histological studies and phase-contrast microscopy, after 6-8 months of observation, in patients of group B, the areas of jaw defects were filled with newly formed bone tissue, identical to native bone, and the resulting trepanobioplas had the structure of cancellous bone with osteoblastic elements forming a chain around osteoid tissue. Having analyzed the results of biochemical and histological studies it was established that application of an osteoplastic composition based on the multipotent mesenchymal stromal cells of the adipose tissue, bone tissue substitute with hydroxyapatite and platelet-rich plasma allows restoration of bone defects of the alveolar processes and an alveolar part of the appropriate jaw in shorter terms. The method is an optimal alternative to traditional osteoplastic materials to be used in modern dental practice and dental implantation.

На сучасному етапі розвитку медицини серед прогресивних методів відновлювального лікування невідворотно пошкоджених органів та тканин надзвичайно значущою є трансплантація донорських клітин [1]. Завдяки доведеній клінічній ефективності трансплантаційні методи відновлювального лікування отримали загальне визнання. Впродовж останніх десятиліть переважно досліджували й вдосконалювали саме методи клітинної трансплантації [2, 3], оскільки, порівняно з трансплантацією органів, останні мають більш низьку собівартість, є безпечнішими та дозволяють надавати медичну допомогу значній кількості пацієнтів, а також забезпечують можливість повністю відмовитися від імуносупресорів або ж використовувати їх у менших дозах [4, 5, 6]. Тканини організму людини мають обмежений потенціал для регенерації, однак прогрес у дослідженні стовбурових клітин і тканинній інженерії дозволяє розробити нові перспективи для ефективного відновлення та збільшення об'єму втрачених тканин у сучасній стоматологічній практиці. Стовбурові клітини більшості тканин дорослого організму мають можливість формувати не тільки клітини того органа, до якого вони належать, але й клітини інших систем й органів, що походять навіть з іншого зародкового листка [7, 8]. Застосування стовбурових клітин і тканинної інженерії в сучасній стоматології викликає значний інтерес, оскільки забезпечує інноваційний підхід для створення матеріалу, який може бути використаний не тільки для відновлення втрачених

тканин, але й для покращення регенерації кісткової тканини [9]. Особливістю кісткової тканини щелеп є те, що при перерозподілі або втраті функціонального навантаження в ній швидко розпочинаються атрофічні процеси. Під час проведення реконструктивних операцій у ділянці голови та шиї оптимальними вважаються автогенні кісткові трансплантати [10]. Однак складність отримання значної кількості матеріалу й необхідність виконання додаткового операційного поля істотно обмежують їх застосування [11]. Перспективним напрямком щодо заміщення об'ємних кісткових дефектів є створення біоімплантатів на основі синтетичних біосумісних матеріалів, які стимулюють ремоделювання кісток або заселення стовбуровими клітинами, при цьому найчастіше використовують саме мезенхімальні мультипотентні стромальні клітини (ММСК) [12]. Здатність ММСК диференціюватися в декілька видів мезенхімальних тканин та виробляти фактори росту зумовлює те, що ці клітини стають базовими для створення тканинно-інженерних конструкцій для регенеративної медицини [13]. Джерелом ММСК можуть бути різні тканини, проте частіше використовують саме жирову тканину (ЖТ) та кістковий мозок [14].

Мета дослідження – виявити ефективність застосування остеопластичних матеріалів на основі мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини під час хірургічного лікування з відновлення кісткових дефектів у стоматологічних пацієнтів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для вивчення процесів ремоделювання кісткової тканини, при заміщенні кісткових дефектів після видалення зуба, пацієнти були розподілені на три групи: група А складалась із 26 пацієнтів, у яких для заповнення кісткового дефекту застосовували замітник кісткової тканини на основі гідроксіапатиту (ЗКТГ); група Б – 28 пацієнтів, де для аугментації використовували остеопластичну композицію на основі ЗКТГ, ММСК–ЖТ та збагаченої тромбоцитами плазми крові (ЗТП); група В – 25 пацієнтів, у яких загоєння кісткового дефекту проходило під кров'яним згустком, спонтанно. Групи досліджуваних були репрезентативними за статевим та віковим складом, а також об'ємом втраченої кісткової тканини після екстракції зуба верхньої чи нижньої щелепи [15]. Визначення активності кислоти фосфатази (КФ) у ротовій рідині проводили уніфікованим методом по «кінцевій точці». Визначення активності лужної фосфатази (ЛФ) у ротовій рідині здійснювали за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна). Дослідження проводили на спектрофотометрі при довжині хвилі 500-560 нм. Індекс мінералізації (ІМ) ротової рідини розраховували за співвідношенням активності ферментів ЛФ до КФ за формулою: $IM = LФ / KФ$ [16]. Забір гістологічного матеріалу проводили на етапі установки дентального імплантата, для цього, після проведеного скелетування кісткової тканини в ділянці імплантації, робили забір біоптату кісткової тканини трепаном. Зразки кісткової тканини з ділянкою фіксували в 10% нейтральному розчині формаліну. Вивчення та аналіз отриманих зразків проводили в універсальному мікроскопі Leica DM 4000 BLED з відеокамерою Leica DFC 7000T. Мікрофотографії препаратів були зроблені за допомогою цієї камери та комп'ютерної програми LASV 48. Статистичне опрацювання результатів дослідження проводили за допомогою пакетів прикладних програм для статистичного аналізу медико-біологічних досліджень програмного забезпечення «Microsoft Excel 21» та «Statistica» (ліцензійний номер STA862D175437Q). Для виконання статистичної обробки отриманих результатів було застосовано аналіз варіаційних рядів – розрахунок середнього арифметичного та його середньої похибки (М та m); проведення оцінки вірогідності різниці отриманих результатів у порівняльних групах за допомогою метода Стюдента. Як вірогідну відмінність приймали значення $p < 0,05$ [17].

Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964-2013 рр.), ICH GCP (1996 р.), Директиви ЄС № 609 (від 24.11.1986 р.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. Комісією з питань біомедичної етики Буковинського державного медичного університету порушень етичних та морально-правових норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 6 від 16.03.2023 р.). Усі пацієнти підписували інформовану згоду на участь у цьому дослідженні, та було вжито всіх заходів щодо забезпечення їхньої анонімності.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведених досліджень встановлено (табл.), що в післяопераційний період максимальне значення активності КФ у ротовій рідині спостерігалось в пацієнтів групи В – $189,15 \pm 12,24$ нмоль/с.л., що на 10,53% перевищило значення показників у групі А, $p < 0,05$ і на 16,67% у групі Б, $p < 0,05$. При цьому активність ЛФ у ротовій рідині становила $813,80 \pm 66,00$ нмоль/с.л. у пацієнтів групи Б до $714,18 \pm 63,12$ нмоль/с.л. в осіб групи В, а отримані значення не відрізнялися статистичною значущістю між собою, $p, p < 0,05$. У післяопераційному періоді значення ІМ кісткової тканини в групі досліджень пацієнтів не відрізнялися статичною значущістю між собою і коливались від максимальних значень – $5,15 \pm 0,86$, $p < 0,05$ в осіб групи Б до мінімальних – $3,77 \pm 0,63$, $p, p > 0,05$ у пацієнтів групи В. Через 3 місяці спостереження після застосування різних остеопластичних препаратів відзначали зниження активності КФ у ротовій рідині пацієнтів на 12,56% у групі А, на 13,47% – у групі Б та на 11,67% – у групі В, за співвідношенням до даних післяопераційного періоду, $p_2 > 0,05$. При цьому значення активності КФ у ротовій рідині пацієнтів груп А та Б не відрізнялися статистичною значущістю між собою, $p > 0,05$, тоді як в осіб групи В активність КФ у ротовій рідині була на 22,48% вищою, ніж у досліджуваних групи В, $p < 0,05$. Активність ЛФ у ротовій рідині пацієнтів груп досліджень дещо збільшилася відносно даних попереднього терміну спостереження, $p_2 > 0,05$, і коливалася від $840,06 \pm 67,00$ нмоль/с.л. у групі Б до $741,44 \pm 64,25$ нмоль/с.л. у групі В, $p, p < 0,05$. Водночас, через 3 місяці спостережені значення ІМ кісткової тканини характеризувалися мінімальними показниками в групі В – $4,44 \pm 0,74$ і максимальними – $6,16 \pm 1,03$ у групі Б, $p, p_1, r_2 > 0,05$.

**Динаміка значень маркерів кісткового метаболізму
в ротовій рідині пацієнтів груп спостереження (M±m)**

Період спостереження	Біохімічні показники	Група А (остеопластика з ЗКТГ) n=26	Група Б (остеопластика ЗКТГ+ММСК-ЖТ+ЗТП) n=28	Група В (спонтанне загоспня) n=25
Післяопераційний період (3-5 доба)	Кисла фосфатаза нмоль/с.л	169,24±10,41	157,64±9,32	189,15±12,24*
	Лужна фосфатаза нмоль/с.л	770,0±65,21	813,80±66,00	714,18±63,12
	ЛФ/КФ	4,55±0,76	5,15±0,86	3,77±0,63
Через 3 місяці	Кисла фосфатаза нмоль/с.л	148,00±8,24	136,41±7,15	167,07±9,36*
	Лужна фосфатаза нмоль/с.л	796,26±66,28	840,06±67,00	741,44±64,25
	ЛФ/КФ	5,38±0,90	6,16±1,03	4,44±0,74
Через 6 місяців	Кисла фосфатаза нмоль/с.л	135,88±7,82 Δ	124,29±7,35 Δ	164,95±8,21*
	Лужна фосфатаза нмоль/с.л	902,28±70,25	1016,15±74,00	847,80±69,28
	ЛФ/КФ	6,24±1,04	8,18±1,27	5,14±0,91*
Через 12 місяців	Кисла фосфатаза нмоль/с.л	127,45±6,80 ΔΔ	112,44±6,52 ΔΔ	150,00±7,21 Δ,*
	Лужна фосфатаза нмоль/с.л	934,58±71,42	1025,20±76,0 Δ	867,83±69,95
	ЛФ/КФ	7,32±1,22	9,12±1,40 Δ	5,78±1,11

Примітки: • $p < 0,05$ – достовірна різниця значень відносно даних групи А; * $p_1 < 0,05$ – достовірна різниця значень відносно даних групи Б відповідно; Δ $p_2 < 0,05$ – достовірна різниця значень відносно даних післяопераційного періоду.

Через 6 місяців дослідження спостерігали достовірне зниження активності КФ у ротовій рідині відносно даних післяопераційного періоду: у групі А – на 19,72%, у групі В – на 21,56%, $p_2 < 0,05$. При цьому в групі В зниження активності КФ становило 12,80% й не мало достовірного характеру, $p_2 < 0,05$. Привертало увагу, що в представників груп А й Б активність КФ у ротовій рідині була на 17,62%, $p < 0,05$ і 24,65%, $p_1 < 0,05$ нижче порівняно з даними осіб групи В. У цей термін спостереження констатовано зростання активності ЛФ у ротовій рідині хворих від найменших значень цього параметра в групі В – 847,80±69,28 нмоль/с.л. до високих у групі Б – 1016,15±74,00 нмоль/с.л., $p, p_1, p_2 > 0,05$. При цьому ІМ кісткової тканини був найбільш високим в осіб групи В – 8,18±1,27, $p, p_1 > 0,05$, і в 1,6 раза меншим у пацієнтів групи В – 5,14±0,91, $p, p_2 > 0,05$, $p_1 < 0,05$. Через 1 рік спостереження в осіб груп досліджень активність КФ у ротовій рідині достовірно знизилася та була меншою відносно даних

післяопераційного періоду: у групі А – на 24,70%, $p_2 < 0,01$, у групі Б – на 28,67%, $p > 0,05$, $p_2 < 0,01$, і в групі В – на 20,70% $p > 0,05$, $p_1, p_2 < 0,05$. Активність ЛФ у ротовій рідині досліджуваних груп А й В зросла на 21,37% та на 21,51%, $p, p_1 > 0,05$ відповідно, однак отримані дані не відрізнялися статистичною значущістю від значень у післяопераційний період, $p_2 > 0,05$. Водночас у пацієнтів групи Б досліджено достовірне зростання активності ЛФ у ротовій рідині (на 25,96%, $p_2 < 0,05$) відносно вихідних даних. Через 12 місяців дослідження ІМ кісткової тканини в досліджуваних зріс в 1,6 раза, $p_2 > 0,05$, у групі А; в 1,8 раза, $p_1 > 0,05$, $p_2 < 0,05$, у групі Б та в 1,5 раза в групі В, $p, p_1, p_2 > 0,05$. Отже, зниження активності КФ на тлі підвищення ЛФ у ротовій рідині вказує на покращення регенеративних процесів й активізацію ремоделювання кісткової тканини в пацієнтів груп дослідження. Однак в осіб групи Б, де для заповнення кісткових дефектів застосовувалася комбінація ЗКТГ, ММСК-ЖТ

та ЗТП, ці процеси відбувалися інтенсивніше, ніж у групах А та В, де для заповнення кісткових дефектів використовувалися ЗКТГ та спонтанне загоєння, відповідно. При проведенні гістологічного дослідження в трепанобіоптатах пацієнтів

групи А візуалізувалася наявність численних фрагментів остеопластичного матеріалу різного ступеня деструкції. Між фрагментами матеріалу спостерігалася пухка сполучна тканина (фібро-ретикулярна остеогенна тканина) (рис. 1А).

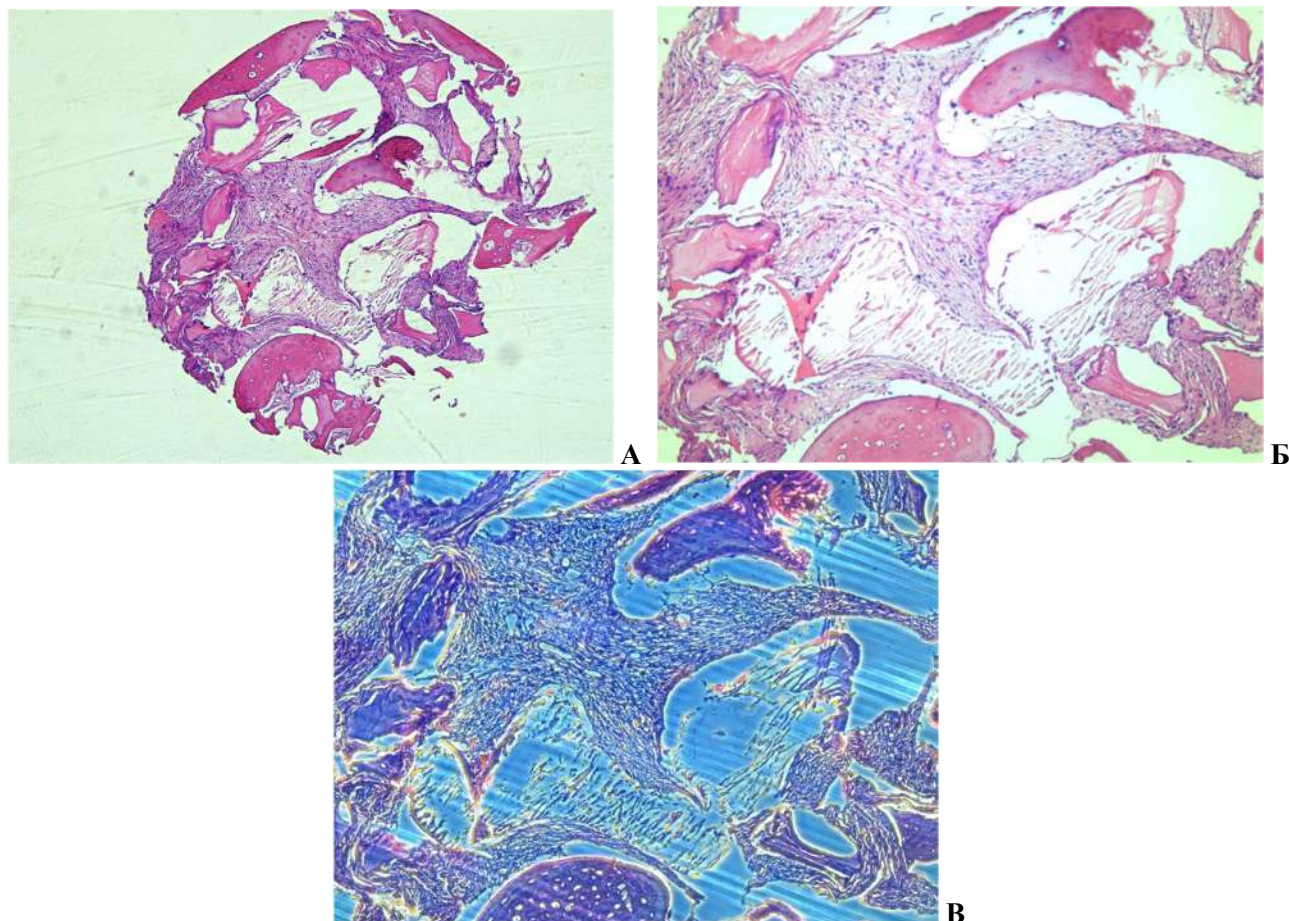


Рис. 1. Гістологічний препарат біоптату кісткової тканини пацієнта групи А:
А) трепанобіоптат, що містить сполучну тканину та новоутворену кісткову тканину (фарбування гематоксиліном та еозином, збільшення x50);
Б) фрагменти остеопластичного матеріалу різного ступеня деструкції, сполучна тканина з численними судинами, ділянки остеогенезу (фарбування гематоксиліном та еозином, збільшення x100);
В) фрагменти безструктурного матеріалу, новоутвореної кістки й сполучної тканини (фазово-контрастна мікроскопія, збільшення x100)

Слід зазначити, що сполучна тканина в трепанобіоптатах пацієнтів групи А містила колагенові волокна, фібробласти, макрофаги та лімфоцити, у ній виявлялася значна кількість капілярів. Між сполучною тканиною й фрагментами остеопластичного матеріалу клітинні елементи не накопичувалися, про що свідчила відсутність макрофагально-гістологічної резорбції. Фрагменти матеріалу мали різну структуру залежно від ступеня розсмоктування: у деяких фрагментах зберігалася гомогенізована структура, без клітин, в інших – виражена деструкція матеріалу (рис. 1Б). При фазово-контрастній

мікроскопії трепанобіоптатів пацієнтів групи А в окремих фрагментах остеопластичного матеріалу прослідковувалися елементи кісткової структури, в інших – спостерігалася його повна деструкція (рис. 1В). Можливо, деструкція матеріалу ЗКТГ відбувалася шляхом безклітинного лізису, під впливом колагенолітичних ферментів.

При проведенні гістологічного дослідження трепанобіоптатів пацієнтів групи Б, у яких було застосовано остеопластичну композицію (ЗКТГ+ММСК-ЖТ+ЗТП), отримані біоптати мали будову зрілої кісткової тканини, переважно губчастої кістки (рис. 2А).

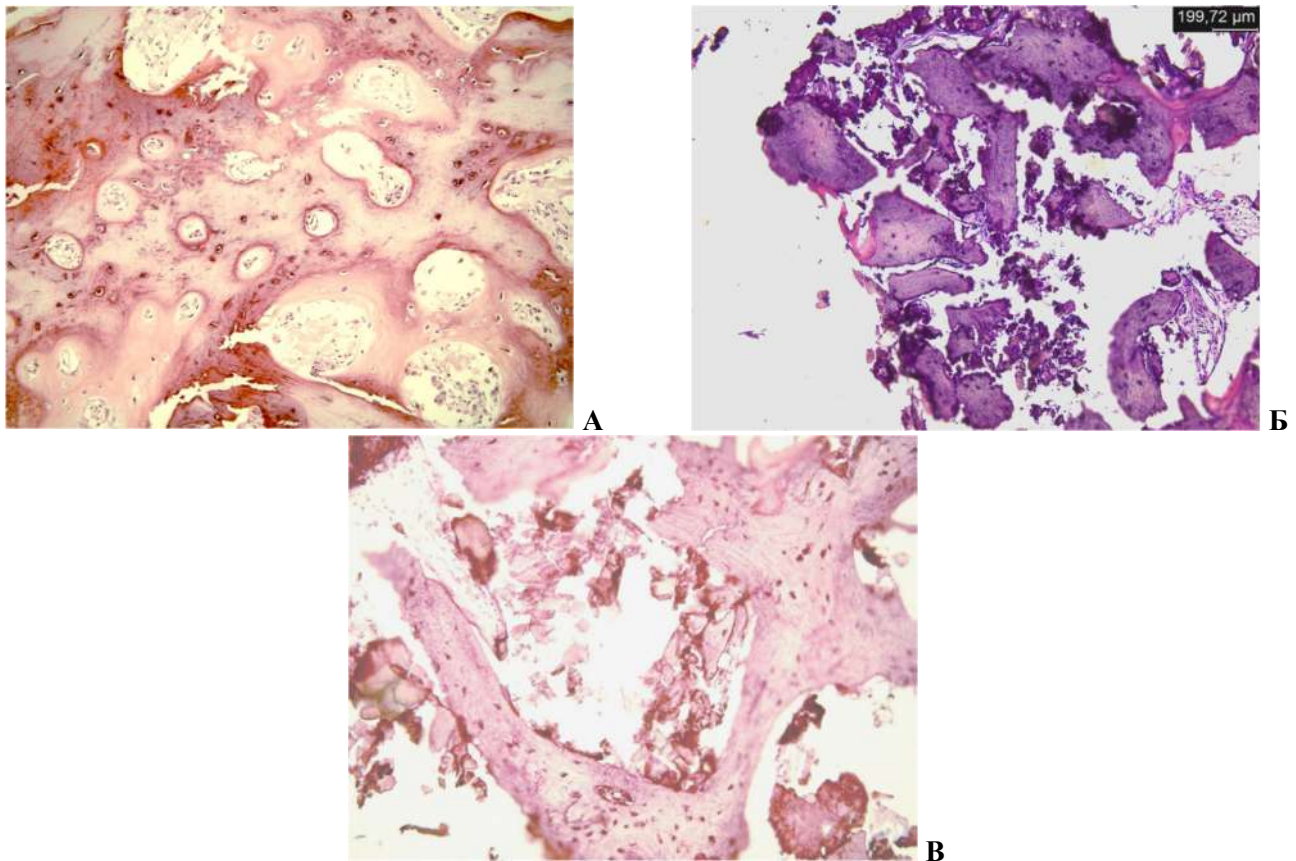


Рис. 2. Гістологічний препарат біоптату кісткової тканини пацієнтів групи Б:
А) зріла кісткова тканина, губчастої структури; Б) численні трабекули новоутвореної кістки, з накопиченими між ними гранулами остеопластичного матеріалу;
Б') між кістковими балками фрагменти демінералізованої кістки (фарбування гематоксиліном та еозином, збільшення x 200)

Між трабекулами спостерігалися кістково-мозкові простори, які були заповнені лімфоцитами, макрофагами, нейтрофілами, окремими плазматичними клітинами. У полі зору зустрічалися остеобластичні елементи, які утворювали ланцюг навколо новоутвореної остеοїдної тканини

(рис. 2Б). У деяких трабекулах візуалізувалися елементи деструкції. Між елементами новоутвореної кістки спостерігалося скупчення дрібних фрагментів ЗКТГ (рис. 2В). Під час фазово-контрастної мікроскопії чітко визначалася зріла кісткова структура новоутворених трабекул (рис. 3А, 3Б).

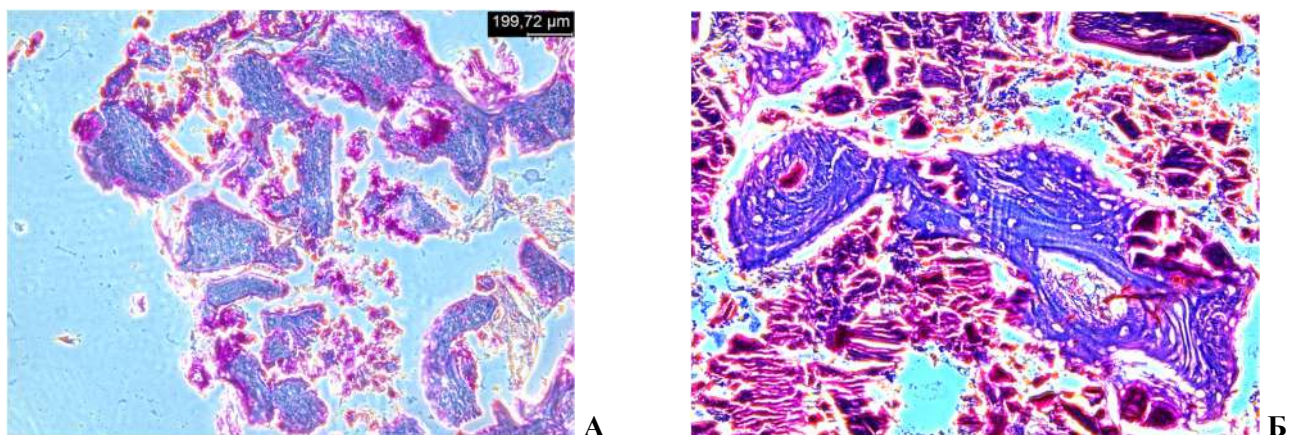


Рис. 3. Гістологічний препарат біоптату кісткової тканини пацієнта групи Б:
А) волокниста структура новоутвореної кістки, гранули імплантованого матеріалу;
Б) структура Гаверсових каналів зрілої кісткової тканини (фазово-контрастна мікроскопія, збільшення x 200)

Під час гістологічного дослідження трепано-біоптатів пацієнтів групи В (спонтанне загоєння, під кров'яним згустком) виявлено формування кісткових трабекул, між якими знаходилася пухка сполучна тканина із судинами та лімфомакрофагальна інфільтрація (рис. 4 А). У центрі трепанобіоптата кісткове утворення було слабо вираженим, а новоутворена кісткова тканина переважно була губ-

частої будови та візуалізувалася тільки по периферії біоптату. При цьому кісткові трабекули мали відносно чітку волокнисту структуру, відзначали формування остеонів (рис. 4Б).

Під час проведення фазово-контрастної мікроскопії спостерігали чітку структуру кісткових трабекул (рис. 5).

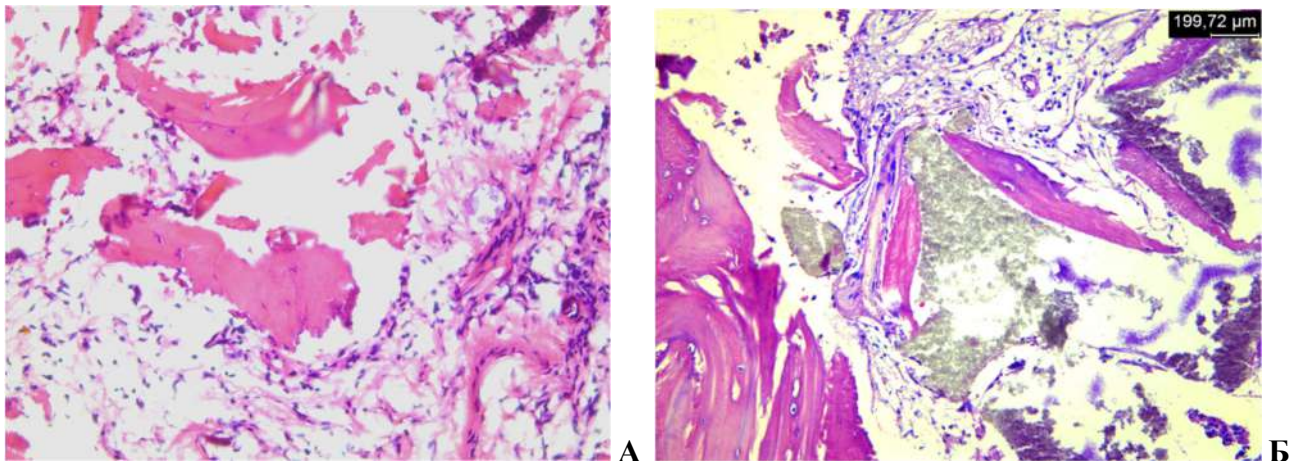


Рис. 4. Гістологічний препарат біоптатів кісткової тканини пацієнта групи В:
А) кісткові фрагменти різної величини з нечіткими контурами,
між ними сполучна тканина з помірно клітинною інфільтрацією;
Б) новоутворена губчаста кістка (фарбування гематоксилином і еозином, збільшення x 200, x 100)

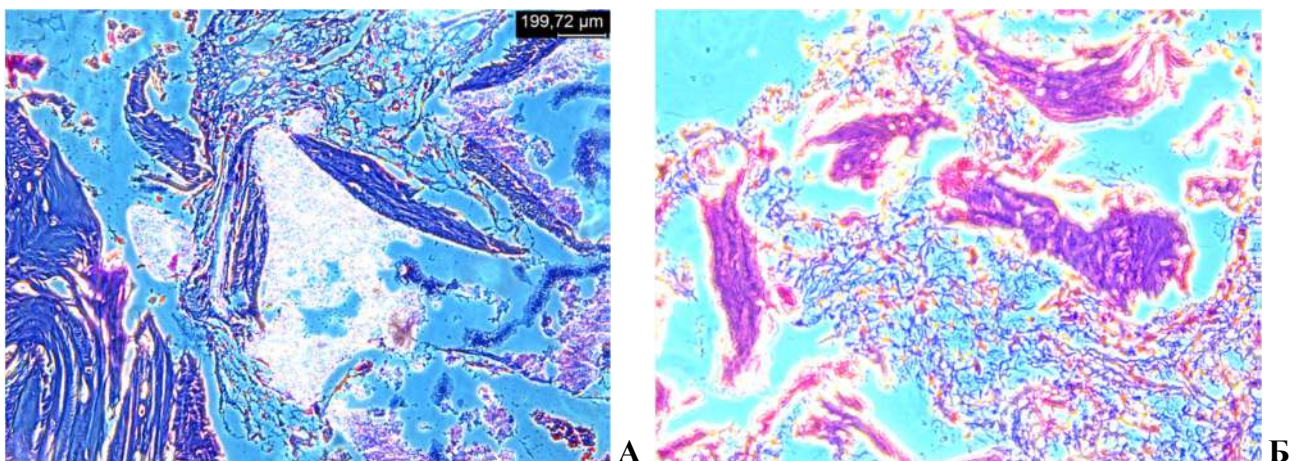


Рис. 5. Гістологічний препарат біоптату кісткової тканини пацієнтів групи В:
А) волокниста структура новоутворених трабекул;
Б) чітка кісткова структура (фазово-контрастна мікроскопія, збільшення x 200)

Через 6-12 місяців спостереження в пацієнтів усіх груп досліджень значення маркерів кісткового обміну в ротовій рідині мало позитивну динаміку, $p_2 < 0,01$; $0,05$. Однак в прооперованих пацієнтів групи Б через 1 рік спостереження активність КФ була на 13,35%, $p < 0,05$, і на 33,40%, $p < 0,05$, $p_1 < 0,05$, нижчою на тлі підвищення ЛФ на 8,84, $p < 0,05$, і на 15,35%, $p > 0,05$

відносно аналогічних даних пацієнтів груп А та В. При цьому ІМ кісткової тканини пацієнтів групи Б був на 8,84% та на 19,74% вищим, ніж у прооперованих груп А і В, відповідно $p, p_1 > 0,05$, $p_2 < 0,05$. Через 6 місяців спостережень під час проведення гістологічного дослідження біоптатів кісткової тканини в пацієнтів групи А було відзначено, що застосування остеопластичного

матеріалу ЗКТГ призводить до заміщення кісткового дефекту не більше ніж на 1/3, при цьому залишковий об'єм займають гранули кістково-пластичного матеріалу. У пацієнтів групи Б отримані трепанобіоптати мали будову кісткової тканини: між трабекулами визначали кістково-мозкові простори та місцями залишки остеопластичного матеріалу. В осіб групи В у зразках, які досліджувалися, процес осифікації проходив по периферії, між невеликою кількістю трабекул візуалізували пухку сполучну тканину з лімфомакрофагальною інфільтрацією.

Отже, отримані результати свідчать про ефективність та значну перспективність застосування ММСК–ЖТ в поєднанні зі ЗТП та ЗКТГ для відновлення об'єму кісткової тканини щелеп перед проведенням дентальної імплантації в пацієнтів, що дозволяє значно знизити інтенсивність післяопераційних проявів та подальшу реабілітацію, а головне – приводить до репаративної регенерації кісткової тканини. Результати наших досліджень підтвердили ряд сучасних положень про доцільність застосування ММСК. За даними [18, 19], ММСК–ЖТ мають подібний до ММСК кісткового мозку цитофенотипічний профіль, високу біосумісність, передбачувану швидкість деградації, мають значний потенціал щодо формування кісткової тканини та можливість адсорбції індуктивних факторів, сприяють реваскуляризації тощо.

ВИСНОВКИ

1. Установлено, що застосування композиції на основі мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини, збагаченої тромбоцитами плазми крові, та замітника кісткової тканини із вмістом гідроксіапатиту сприяє покращенню регенеративних процесів у кістковій тканині щелеп, що підтверджено зниженням на 28,68% активності кислої фосфатази, підви-

щенням на 25,97% активності лужної фосфатази в ротовій рідині пацієнтів групи Б та, відповідно, підвищенням на 77,08% співвідношення лужної до кислої фосфатази.

2. За результатами гістологічних досліджень та фазово-контрастної мікроскопії, у пацієнтів групи Б через 6-8 місяців спостереження ділянки дефектів щелеп заповнювались новоутвореною кістковою тканиною, що була ідентична нативній кістці, а отримані трепанобіоптати мали будову губчастої кістки з остеобластичними елементами, які утворювали ланцюг навколо остеодної тканини.

3. Таким чином, виходячи з отриманих результатів дослідження, з упевненістю можна стверджувати, що застосування остеопластичної композиції на основі мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини дозволяє відновлювати кісткові дефекти коміркових відростків та коміркової частини відповідної щелепи в коротші терміни і є оптимальною альтернативою традиційним остеопластичним матеріалам для використання в сучасній стоматологічній практиці та дентальній імплантології.

Внески авторів:

Бамбуляк А.В. – концептуалізація, ресурси, методологія, проведення гістологічних та біохімічних досліджень;

Кузняк Н.Б. – адміністрування проекту, відбір даних, аналіз та зіставлення біохімічних та гістологічних даних, консультація, рецензування остаточного тексту;

Лопушняк Л.Я. – формальний аналіз, написання робочого варіанту тексту;

Дроник І.І. – рецензування та редагування остаточного тексту;

Мигаль О.О. – статистична обробка даних.

Фінансування. Дослідження не має зовнішніх джерел фінансування.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES

1. Kwon SG, Kwon YW, Lee TW, Park GT, Kim JH. Recent advances in stem cell therapeutics and tissue engineering strategies. *Biomater Res.* 2018 Dec 19;22:36. doi: <https://doi.org/10.1186/s40824-018-0148-4>
2. Bambuliak A, Kuzniak N, Honcharenko V, Ostafiychuk M, Palamar A. Osteoplastic properties of multipotent mesenchymal stromal cells of adipose tissue. *Wiad Lek.* 2021;74(10 pt 1):2374-8. doi: <https://doi.org/10.36740/WLek202110103>
3. Gui C, Parson J, Meyer GA. Harnessing adipose stem cell diversity in regenerative medicine. *APL Bioeng.* 2021 Apr 1;5(2):021501. doi: <https://doi.org/10.1063/5.0038101>
4. Li Y, Jin D, Xie W, Wen L, Chen W, Xu J, et al. PPAR-γ and Wnt Regulate the Differentiation of MSCs into Adipocytes and Osteoblasts Respectively. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2018 Feb 23;13(3):185-92. doi: <https://doi.org/10.2174/1574888X12666171012141908>
5. Belluci MM, de Molon RS, Rossa C Jr, Tetradi S, Giro G, Cerri PS, et al. Severe magnesium deficiency compromises systemic bone mineral density and aggravates inflammatory bone resorption. *J Nutr Biochem.* 2020 Mar;77:108301. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.108301>
6. Uchida Y, Irie K, Fukuhara D, Kataoka K, Hattori T, Ono M, et al. Commensal Microbiota Enhance

Both Osteoclast and Osteoblast Activities. *Molecules*. 2018;23(7):1517.

doi: <https://doi.org/10.3390/molecules23071517>

7. Ge W, Jiang J, Baroja ML, Arp J, Zassoko R, Liu W, et al. Infusion of mesenchymal stem cells and rapamycin synergize to attenuate alloimmune responses and promote cardiac allograft tolerance. *American Journal of Transplantation*. 2019;9:1760-72.

doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2009.02721>

8. Graziani F, Chappuis V, Molina A, Lazzarin R, Schmid E, Chen S, et al. Effectiveness and clinical performance of early implant placement for the replacement of single teeth in anterior areas: A systematic review. *J Clin Periodontol*. 2019 Jun;46(Suppl 21):242-56.

doi: <https://doi.org/10.1111/jcpe.13092>

9. Al-Obaidi MM, Al-Bayaty FH, Al Batran R, Ibrahim OE, Daher AM. Ellagic Acid Increases Osteocalcin and Alkaline Phosphatase After Tooth Extraction in Nicotinic-Treated Rats. *Curr Pharm Des*. 2016;22(16):2403-10.

doi: <https://doi.org/10.2174/138161282216160428002842>

10. Skrypa OL, Bandrivsky YL. Determining the frequency of functional disorders of the TMJ in patients with mandible fractures depending on the location. *Wiadomości Lekarskie*. 2020;73(2):245-9.

doi: <https://doi.org/10.36740/WLek202002107>

11. Chen Q, Cai J, Li X, Song A, Guo H, Sun Q, et al. Progranulin Promotes Regeneration of Inflammatory Periodontal Bone Defect in Rats via Anti-inflammation, Osteoclastogenic Inhibition, and Osteogenic Promotion. *Inflammation*. 2019 Feb;42(1):221-34.

doi: <https://doi.org/10.1007/s10753-018-0886-4>

12. Pilawski I, Tulu US, Ticha P, Schüpbach P, Traxler H, Xu Q, et al. Interspecies Comparison of Alveolar Bone Biology, Part I: Morphology and Physiology of Pristine

Bone. *JDR Clin Trans Res*. 2020;2380084420936979.

doi: <https://doi.org/10.1177/2380084420936979>

13. Bandrivsky YL, Bandrivska OO, Shkrebnjuk RY, Dyryk VT. Prevalence of the generalized periodontitis in patients with different groups blood in depending on age and periodontal biotype. *Wiad Lek*. 2020;73(1):119-22.

doi: <https://doi.org/10.36740/WLek202001123>

14. Meza-Zepeda LA, Noer A, Dahl JA, Micci F, Myklebost O, Collas P. High-resolution analysis of genetic stability of human adipose tissue stem cells cultured to senescence. *J Cell Mol Med*. 2018 Apr;12(2):553-63.

doi: <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2007.00146x>

15. Bambuliak AV. [Substantiation efficiency of the surgical treatment of jaw bones defects with the use of cell technology]. [dissertation]. Chernivtsi: Bukovinian State Medical University; 2023. 417 p. Ukrainian.

16. Bandrivsky Y, Bandrivska O, Gnid R, Minko L, Shevchuk M. Indicators of markers of bone metabolism in patients with generalized periodontitis depending on blood group. *Arch Balk Med Union*. 2019;54(1):72-7.

doi: <https://doi.org/10.31688/ABMU.2019.54.1.10>

17. Hruzieva TS, Lekhan VM, Ohniev VA, Haliienko LI, Kriachkova LV, Palamar BI, et al. [Biostatistics]. Vinnytsia: New Book; 2020. 384 p. Ukrainian.

18. Storti G, Scioli MG, Kim BS, Cervelli V. Adipose-derived stem cells in bone tissue engineering: useful tools with new application. *Stem Cells Int*. 2019;2019:3673857.

doi: <https://doi.org/10.1155/2019/3673857>

19. Wankhade UD, Shen M, Kolhe R, Fulzele S. Advances in adipose-derived stem cell isolation, characterization, and application in regenerative tissue engineering. *Stem Cells Int*. 2016;2016:3206807.

doi: <https://doi.org/10.1155/2016/3206807>

Стаття надійшла до редакції 18.01.2024;
затверджена до публікації 01.05.2024

