

CLINICAL AND EXPERIMENTAL RATIONALE FOR THE FEASIBILITY OF USING A COMBINED FIBRIN–BONE SCAFFOLD WITH A PRONOUNCED LOCAL ANTIMICROBIAL EFFECT

Ivano-Frankivsk National Medical University (Ivano-Frankivsk, Ukraine)

yraevchyk77@gmail.com

The article discusses the effectiveness of a newly developed method for improving the efficiency of bone augmentation in the replacement of bone tissue defects. The aim of this study was to determine the efficacy of restoring jaw-bone defects using an allogeneic–autologous material obtained by the simultaneous centrifugation of demineralised bone substitute granules and the patient's venous blood. For the clinical study, 90 patients aged 20 to 40 years with radicular cysts of the jaws were selected. All patients were divided into Groups I, II and III, who underwent cystectomy followed by bone grafting. In Group I, a scaffold was used that had been prepared according to the protocol we developed. Microbiological analysis revealed a more pronounced cumulative effect of lincomycin at low concentrations in the pressed plasma fraction (18.75 mg/mL) and in the fibrin matrix (9.4 mg/mL). The results of postoperative clinical and radiological examinations confirmed the effectiveness of the technique we developed. This was evidenced by the high proportion of patients in Group I (83.3%) who achieved complete restoration of the bone defect, which correlated with bone tissue density values ranging from 575.45 ± 20.55 to 636.90 ± 16.64 HU, corresponding to intact bone. In contrast, in Groups II and III, only 16 patients (53.3%) and 13 patients (43.3%), respectively, demonstrated complete restoration of bone tissue. Clinical and radiological analysis thus confirmed the effectiveness of the method we developed, as indicated by positive outcomes in the form of complete bone tissue restoration in 83.3% of patients in Group I, compared with 53.3% in Group II and 43.3% in Group III.

Key words: bone tissue, bone tissue regeneration, bone-plastic material, bone plastic surgery, radicular cyst, microbiological study, antimicrobial effect.

Connection of the publication with planned research works.

The work is a fragment of a comprehensive research work, "Clinical and experimental justification of modern methods of diagnosis, prevention, and treatment of dental diseases," state registration number 0124U003547.

Introduction.

At present, there is a growing demand for bone tissue engineering. This is most commonly associated with chronic inflammatory processes in the maxillofacial region, with chronic osteomyelitis and radicular cysts being the most frequent. These pathologies most often result in the destruction of bone tissue [1, 2, 3].

Currently, a variety of implant materials are used in surgical practice for the restoration of bone tissue. These are typically osteoconductive, biodegradable scaffolds composed of tricalcium phosphate and hydroxyapatite [4, 5, 6]. However, when using these materials and standard techniques, difficulties arise in restoring the complete structure of bone tissue, due to the premature degradation of granules and the development of bone hyperostosis or the formation of connective tissue around the implanted granules. Several studies have also emphasised the importance of using such structural materials as cell carriers [7, 8, 9].

Analysis of the literature indicates a growing interest in autologous materials, which are currently regarded as the gold standard in reconstructive technologies. This is attributed to factors such as histocompatibility, lack of toxicity, and the presence of specific components that directly or indirectly influence wound-healing processes. Among the most promising biomaterials is PRF (Platelet-Rich Fibrin), which offers several advantages,

including enhanced protein and growth factor release, fibroblast proliferation, and the ability of these cells to migrate and express growth factors [10, 11, 12, 13, 14]. These materials have been used both to fill post-extraction defects following third molar removal [15] and in other surgical procedures [16, 17, 18]. This type of plasma has been applied in both gel and injectable forms [18, 19, 20].

In addition to practical clinical applications, laboratory studies on the properties of this autologous material are currently ongoing. Crisci A and Barillaro MC reported that L-PRF (rich in fibrin, platelets and leukocytes) and its derivatives (A-PRF, i-PRF) are valuable as a basis for stem cells in wound regeneration [21, 22]. Moreover, the use of PRF technology in combination with bone substitute material creates optimal conditions for bone tissue regeneration. For example, Kim BJ, Kwon TK and colleagues reported interesting findings when evaluating a platelet- and fibrin-rich matrix (PRF) mixed with tricalcium phosphate and recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2), and its potential to enhance bone regeneration in sinus lift procedures [23]. However, analysis of existing techniques has shown that when PRF technology is combined with bone graft material, so-called injectable PRF is usually employed, as only this consistency enables complete integration of bone granules with growth factor-enriched plasma.

The disadvantage of this method is the lack of mechanical stability of such a hybrid combined scaffold. By contrast, another method results in the formation of a mechanically stable, gel-like scaffold in a test tube during centrifugation. For instance, De Almeida Nóbrega Correia Pascoal M conducted a comparative analysis

of the tensile strength of platelet concentrates between two types of autologous platelet concentrates (fibrin enriched with leukocytes and platelets versus fibrin enriched with platelets) [24, 25]. However, this type of gel-like PRF cannot be fully combined with bone tissue.

It should also be noted that surgical interventions in the oral cavity impose several requirements, not only on the surgical technique itself, but also on their impact on the bacterial flora. Consequently, in recent years, there has been a marked increase in interest in materials with locally controlled antibiotic release. In particular, attempts have been made to enhance this antibacterial property by adding antibiotics to the patient's venous blood, specifically using PRF as an antibacterial carrier to achieve a slow release of the active ingredient at the delivery site [26, 27].

In our view, the combination of a mechanically stable fibrin PRF matrix with integrated bone substitute material and antibiotics will, on the one hand, ensure the stability of such a scaffold within the bone defect and, through the action of growth factors, stimulate bone tissue regeneration. On the other hand, it will serve as a means of local drug delivery to the wound.

The aim of the study.

To determine the effectiveness of restoring jawbone defects using allogeneic–autologous material obtained by the simultaneous centrifugation of demineralised bone substitute granules and the patient's venous blood.

Objects and research methods.

To obtain a scaffold created by the simultaneous centrifugation of the patient's blood and bone substitute material, a specially designed titanium filter made of lightweight biocompatible titanium alloy Ti-6Al-4V was used (Patent No. 152966. A61L 33/00. Published 03.05.2023, Bulletin No. 18).

For the clinical study, 90 patients aged 20 to 40 years with radicular cysts of the jaws were selected. To allow a reliable analysis of defect repair dynamics, the size of the defect, not exceeding 30 mm, was also taken into account when selecting patients. All patients included in the study were generally healthy, with no pathological conditions of the oral mucosa or concomitant systemic diseases. Furthermore, at the time of surgical treatment, no orthopaedic structures were present in the area of surgical intervention. Patients with no history of tobacco use and with good oral hygiene – that is, factors that could directly or indirectly influence the study outcomes – were also selected.

To evaluate the effectiveness of the combined matrices we obtained, all patients were divided into three groups, based on the technique employed. Group I comprised 30 patients who underwent cystectomy combined with bone grafting using a known method. However, during scaffold preparation, we applied a protocol developed by us (Patent No. 158126, A61L 31/00, A61L 33/00. Published 01.01.2025, Bulletin No. 1) using a custom-designed filter, bone substitute material and a collagen membrane. Group II included 30 patients who underwent cystectomy combined with bone grafting using a standard technique. Demineralised CenoBone® granules (manufactured by Cenobiologics Ltd) and CenoMembrane® insulating collagen membrane were used as bone substitute material. Group III included 30 patients who underwent cystectomy without bone graft

material, but with the use of CenoMembrane® collagen membrane manufactured by Cenobiologics.

According to the developed protocol, in Group I, venous blood was first collected from the patient into a test tube containing a plasma activator. Glass vacuum tubes, such as those supplied by MM Medic, were used for this procedure. The developed device was then placed inside the tube and filled with granules of demineralised bone substitute material CenoBone® produced by Cenobiologics. The tube was tightly sealed, placed in a centrifuge, and centrifuged for 12 minutes at 2500 rpm, followed by 3 minutes at 3000 rpm.

After centrifugation, the erythrocyte mass remained in the lower third of the tube, passing through the pores between the bone substitute granules and through the filtering part of the device. The bone substitute granules, however, remained on the surface of the filtering part of the device. An organised fibrin matrix containing platelets and growth factors formed in the upper half of the tube, with bone substitute granules integrated into it. After centrifugation, the combined scaffold was removed from the test tube and placed into the bone defect, covering it with an insulating collagen membrane, CenoMembrane®, manufactured by Cenobiologics.

The effectiveness of the method we developed was assessed based on clinical and radiological indicators.

Early postoperative clinical results in patients from Groups I, II and III were evaluated using parameters such as the presence of pain, swelling, exudate along the incision line, and wound edge separation. Radiological examinations were performed both before surgery and at 6 and 12 months postoperatively. Computed tomography data were used to assess bone density and structure. The density and structure of newly formed bone tissue were analysed in Hounsfield units (HU) (1919) using SimPlant Pro 11.04 software. To compare bone tissue density, intact areas of the jaws were examined. Additionally, a database of computed tomography data from 30 patients in the control group, who had no jawbone pathology, was used. The dimensional parameters of odontogenic cysts were determined by linear measurements of width, height, and depth in three mutually perpendicular directions.

All patients underwent surgery via an angular or trapezoidal incision, followed by cystectomy and resection of the root apex (if necessary), after which the mucoperiosteal flap was repositioned and secured with sutures.

The study was conducted in accordance with the principles of the Helsinki Declaration of the World Health Organization, the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine, and the relevant laws of Ukraine. The study protocol was approved by the Local Ethics Committee for all participants. Written informed consent was obtained from all patients for participation in the study and for the collection and processing of their data.

An experimental microbiological study was performed to investigate the potential of imparting local antimicrobial properties to scaffolds obtained using our method.

Blood samples were collected from patients for experimental microbiological testing immediately before surgery, alongside the samples used for bone grafting. To study the saturation of the fibrin scaffold with antibiotics obtained using our method, microbiological testing was

conducted using three osteotropic antibiotics: Cefazolin (Borshchagivsky Chemical and Pharmaceutical Plant, Ukraine, 250 mg/ml), Lincomycin (Darnitsa Pharmaceutical Company, Ukraine, 300 mg/ml), and Ciprofloxacin (Darnitsa Pharmaceutical Company, Ukraine, 2 mg/ml). These antibiotics were added to a test tube containing venous blood prior to centrifugation. The blood-antibiotic mixture was then centrifuged according to the protocol described above: 12 minutes at 2500 rpm, followed by 3 minutes at 3000 rpm. The fibrin matrix samples obtained during centrifugation were impregnated with antibiotics at the following concentrations: 7.8 ml of blood + 0.2 ml of antibiotic; 7.6 ml of blood + 0.4 ml of antibiotic; 7.4 ml of blood + 0.6 ml of antibiotic; and 7.2 ml of blood + 0.8 ml of antibiotic. The concentration of antibiotics for impregnation into the matrix samples was determined based on the sensitivity of the microbial culture to these drugs.

An antibiotic-sensitive clinical strain of *S. aureus* was used as a biosensor to determine antibiotic concentrations. This strain was identified based on a combination of morphological and cultural characteristics, as well as biochemical microtests using the "STAPHYtest 16" system (Lachema, Czech Republic), in accordance with the recommendations of Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria [28]. The minimum inhibitory concentration (MIC) values of the antibiotics used in the study for this strain were determined using the serial microdilution method in broth: cefazolin – 0.305 µg/ml, lincomycin – 5.86 µg/ml, and ciprofloxacin – 0.156 µg/ml.

To assess the saturation of the fibrin scaffold with antibiotics, the distribution of the scaffold across different phases of the experimental system was examined. To determine the concentration of antibiotics in each experiment, three samples were collected from the upper fraction: blood serum formed immediately after centrifugation, blood serum separated (by pressing) from the formed fibrin clot, and the eluate from the pressed fibrin clot. To obtain the eluate, the compressed clot was weighed under sterile conditions, after which sterile saline solution was added in a volume equivalent to the mass (m/v 1:1). The antibiotic was eluted on an MR-1 shaker (SIA BIOSAN, Latvia) at a stirring frequency of 20 rpm for 10 minutes at room temperature.

The antibiotic content in the tested samples was assessed using the Kirby-Bauer disc diffusion test [29] and the serial microdilution method in broth [29, 30], employing an *S. aureus* sensor culture. The disc diffusion test was performed on Petri dishes containing Mueller-Hinton agar (HiMedia Laboratories Pvt Ltd., India). Sterile paper discs were placed on the surface of the medium, onto which 2 µl of selected serum samples (undiluted and diluted 1:10 and 1:100) were applied. Additionally, pressed fibrin clots and discs containing antibiotics (Pharmactiv LLC, Ukraine) were applied to the medium surface. The diameters of the growth inhibition zones were determined after incubation at 37°C for 24 hours. Digital images of the cultures on the plates were processed using the UTHSCSA ImageTool 2.0 software (The University of Texas Health Science Centre in San Antonio, ©1995–1996). The concentration of antibiotics in the samples was determined using the serial microdilution method in broth [29, 30]. Seeded plates were incubated at 37°C in a MIR-162 static incubator (SANYO Electric Biomedical Co. Ltd., Japan) for 24 hours.

The presence of growth in the wells was assessed based on the increase in optical density (OD) of the medium, recorded using a Synergy™ HTX multimode spectrophotometer (BioTek Instruments Inc., USA) at a wavelength of 600 nm immediately after seeding and after 24 hours of incubation.

All microbiological experiments were performed in triplicate. Statistical analysis of numerical data was carried out using Microsoft Excel 2019 software (Microsoft Office 2019, Microsoft). Welch's ANOVA test was used to assess the significance of differences between the samples. To evaluate the reliability of differences between the results obtained and those of the control group, a parametric t-test (Student's t-test) with Bonferroni correction for multiple comparisons was applied. The reliability of differences in qualitative data between comparison groups was also assessed using the chi-square test with Yates' correction for continuity. A p-value of <0.05 was considered statistically significant.

Research results and their discussion.

Control studies conducted with samples obtained after fibrin clot formation in the "blood + isotonic solution" system showed no inhibition of *Staphylococcus* sensor culture growth. In contrast, all tested samples containing antibiotics exhibited significant antibacterial activity (p<0.05) (table 1).

An antibacterial effect against *S. aureus* sensor culture was observed in all selected samples. The diameters of the growth inhibition zones of the sensor culture under the influence of serum samples (both obtained by natural clot retraction and from compressed clots) were significantly smaller (p<0.05) compared with the zones obtained using the cefazolin solution employed for saturation. This result is expected, as it reflects the uniform distribution of the antibiotic throughout the entire volume of blood samples used to form PRF.

Analysis of antibiotic concentrations in blood samples demonstrated a relationship between the amount of antibiotic impregnated, the type of drug, and the dynamics of its concentration increase in the blood (table 2).

In experiments on PRF saturation with cefazolin, when 0.2 ml of a 250 mg/ml cefazolin solution was added to 7.8 ml of blood, incorporation of the antibiotic into the fibrin-platelet matrix was weak. Uniform distribution of the antibiotic throughout all elements of the system was observed only when 0.6 ml of cefazolin was added. Unlike cefazolin, lincomycin saturated the fibrin-platelet clot much more efficiently; even at smaller doses (0.4 ml), its active incorporation into the PRF structure was evident. In contrast, ciprofloxacin showed a low tendency to incorporate into the PRF protein framework. Its concentrations in the eluates of pressed clots across all experimental variants were 4-16 times lower than in the corresponding pressed serum samples and 4-32 times lower than in retracted serum (p<0.05). The addition of high doses of antibiotic solutions (0.8 ml per 7.2 ml of blood) adversely affected the mechanical properties of the formed clots, resulting in a very delicate and mechanically unstable fibrin scaffold. We determined that the optimal saturation conditions are co-incubation with 0.4 ml or 0.6 ml of antibiotic solution. Polak D, Clemer-Shamai N, and Shapira L also highlighted the potential impact of antibiotics on the formation of the fibrin matrix, specifically its structure. The authors demonstrated that high concentrations of antibiotics

Table 1 – Antimicrobial activity of fibrin clot components saturated with cefazolin (diameter of *S. aureus* growth inhibition zones, mm)

Tested samples		Calculated concentration of CZO in samples, µg/ml	Sample dilutions		
			Not diluted	1:10	1:100
Antibiotic control	CZO	250	40.19±0.37	34.15±0.51	28.06±0.45
Control 7.2 ml blood + 0.8 ml isotonic solution	Serum	0	0	0	0
	Clot serum		0	0	0
	Compressed clot		0	NT	NT
7.8 ml blood + 0.2 ml CZO	Serum	6.25 (dilution 1:40)	34.70±0.79 ^{*/†}	26.23±0.28 ^{*/†}	18.61±0.26 ^{*/†}
	Clot serum		31.48±0.31 ^{*/†}	23.98±0.49 ^{*/†}	16.72±0.11 ^{*/†}
	Compressed clot		46.71±1.53 ^{*/†}	NT	NT
7.6 ml blood + 0.4 ml CZO (dilution CZO 1:20)	Serum	12.5 (dilution 1:20)	29.97±0.34 ^{*/†}	26.12±0.27 ^{*/†}	17.16±0.22 ^{*/†}
	Clot serum		29.14±0.25 ^{*/†}	25.39±0.28 ^{*/†}	16.34±0.17 ^{*/†}
	Compressed clot		44.53±0.52 ^{*/†}	NT	NT
7.4 ml blood + 0.6 ml CZO	Serum	18.75 (dilution 1:13)	28.02±0.26 ^{*/†}	22.83±0.43 ^{*/†}	18.06±0.42 ^{*/†}
	Clot serum		32.10±0.27 ^{*/†}	23.67±0.32 ^{*/†}	18.16±0.35 ^{*/†}
	Compressed clot		41.09±0.48 [†]	NT	NT
7.2 ml blood + 0.8 ml CZO	Serum	25 (dilution 1:10)	29.62±0.17 ^{*/†}	25.06±0.19 ^{*/†}	17.56±0.23 ^{*/†}
	Clot serum		29.98±0.25 ^{*/†}	22.43±0.32 ^{*/†}	16.63±0.26 ^{*/†}
	Compressed clot		39.27±0.40 [†]	NT	NT

Notes: NT – compressed clot tested in its entirety, undiluted; * – $p < 0.05$ compared to the control solution CZO; † – $p < 0.05$ compared to control without antibiotic.

in the blood, up to 1 ml, negatively affected the fibrin matrix, whereas the addition of 0.5 ml did not significantly alter the properties of PRF [26]. Based on their findings and in comparison with our observations, it can be concluded that the optimal antibiotic concentration for impregnating fibrin–bone scaffolds is up to 0.4 ml of lincomycin. The advisability of using low concentrations of the drug was also emphasised by Shaochuan Wang and Youbin Li [27].

Among the 90 patients with radicular cysts of the jaws, 48 (53.33%) were men and 42 (46.67%) were women. Cysts most frequently occurred in the 30-40-year age group, accounting for 75.55% of all patients, while the remaining 24.45% were aged 20-30 years.

Analysis of patient complaints revealed a predominance of asymptomatic pathology in 61 patients (67.77%). However, in 29 cases (32.22%), retrospective history indicated periodic pain and swelling at the site of the pathological process. A small number of patients (5, or 5.55%) experienced sensory disturbances in the lower lip and chin area (Vincent's symptom) combined with pain.

Based on computed tomography data, we analysed the linear dimensions of radicular cysts of the jaws, which showed that cysts ranging from 15 to 30 mm in size were present among the examined patients. The largest proportion consisted of defects up to 20 mm, accounting for 61 patients (67.77%). A smaller proportion, 19 patients (21.11%), had bone defects up to 25 mm, while the least common were radicular cysts up to 30 mm, occurring in 10 patients (11.11%).

Analysis of the distribution of radicular cysts between the maxilla and mandible

revealed some differences. Detailed examination of cyst locations showed that 54 cysts (60%) were in the maxilla, compared with 36 cysts (40%) in the mandible. X-ray examinations indicated that, among maxillary cysts, those in the anterior region – from the central incisors to the canines – were the most frequent, occurring in 35 patients (38.8%). These were followed, in descending order of frequency, by cysts in the area of the first and second molars (12 patients, 13.3%) and both premolars of the maxilla (7 patients, 7.7%) (fig. 1).

In contrast, examination of the mandible showed that radicular cysts most frequently occurred in the molar region, affecting 16 patients (17.7%), and in the

Table 2 – Antibiotic concentrations in fibrin clot components under different saturation conditions

Composition of the experimental system		Calculated concentration of antibiotic in the system, mg/ml	Established antibiotic concentration, mg/ml		
Antibiotic	Blood		Serum after clot retraction	Serum compressed from clot	Compressed clot
Cefazolin, 250 mg/ml					
0.2 ml	7.8 ml	6.25	3.91	1.95*	0.49*
0.4 ml	7.6 ml	12.5	3.91	7.81*	1.95*
0.6 ml	7.4 ml	18.75	15.63	15.63	15.63
0.8 ml	7.2 ml	25.0	7.81	15.63	3.91*
Lincomycin, 300 mg/ml					
0.2 ml	7.8 ml	7.5	4.7	4.7	4.7
0.4 ml	7.6 ml	15.0	9.4	18.75*	9.4
0.6 ml	7.4 ml	22.5	9.4	18.75*	4.7*
0.8 ml	7.2 ml	30.0	18.75	9.4*	18.75
Ciprofloxacin, 2.0 mg/ml					
0.2 ml	7.8 ml	50	0.0625	0.0156*	0.0039*
0.4 ml	7.6 ml	100	0.125	0.0625*	0.0039*
0.6 ml	7.4 ml	150	0.125	0.0625*	0.0156*
0.8 ml	7.2 ml	200	0.125	0.250*	0.03125*

Notes: 1. Antibiotic concentrations calculated from mean optical density values of three independent experiments; 2. * – $p < 0.05$ compared with the antibiotic concentration in serum obtained after natural clot retraction following centrifugation.

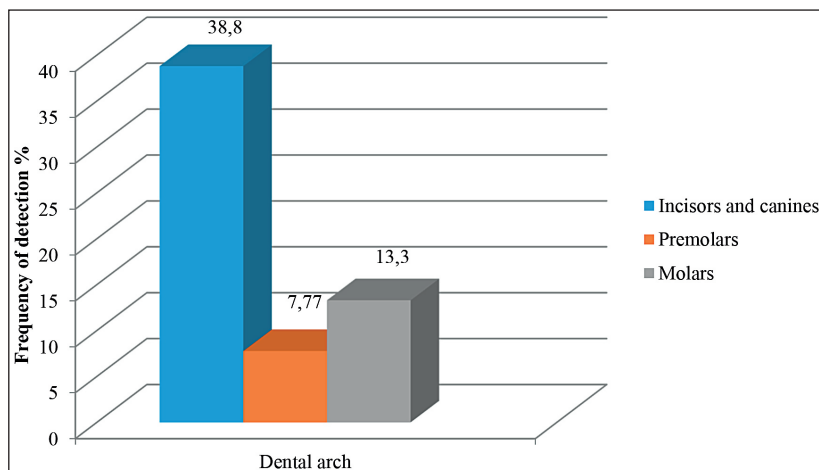


Figure 1 – Frequency of occurrence of radicular cysts in the maxilla.

anterior teeth, affecting 12 patients (13.3%). Less frequently, radicular cysts were observed in the premolar region in 8 patients (8.8%) (fig. 2).

Analysis of clinical data for Groups I, II, and III revealed some differences between the groups. On the third day of examination, all patients in Groups I, II, and III exhibited increased collateral oedema. However, in 7 patients (26.6%) in Group II and 6 patients (20%) in group III, serous discharge appeared along the incision line on the third to fourth day, and in 3 patients (10%) in Group II and 5 patients (16.6%) in Group III, slight separation of the sutures was observed. In contrast, in Group I, only 4 patients (13.3%) experienced minor serous discharge from the surgical wound, specifically from the incision line, within the same period. On the sixth to seventh day after cystectomy and bone grafting, minor discharge from the surgical wound was present in 5 patients (16.6%) in Group II and 6 patients (20%) in Group III, whereas in Group I, such changes were observed in only 2 patients (6.6%). During a follow-up clinical examination on the twelfth to fourteenth day, inflammatory changes in the form of minor exudate discharge from the postoperative wound were noted in 5 patients (16.6%) in Group II, 6 patients (20%) in Group III, and 2 patients (6.6%) in Group I. Therefore, analysis of the clinical data suggests that postoperative serous discharge could be associated with infection in the bone graft area, either due to an existing infection in the wound from the pathological process, reinfection from the root canals, or as a result of separation of the surgical wound sutures.

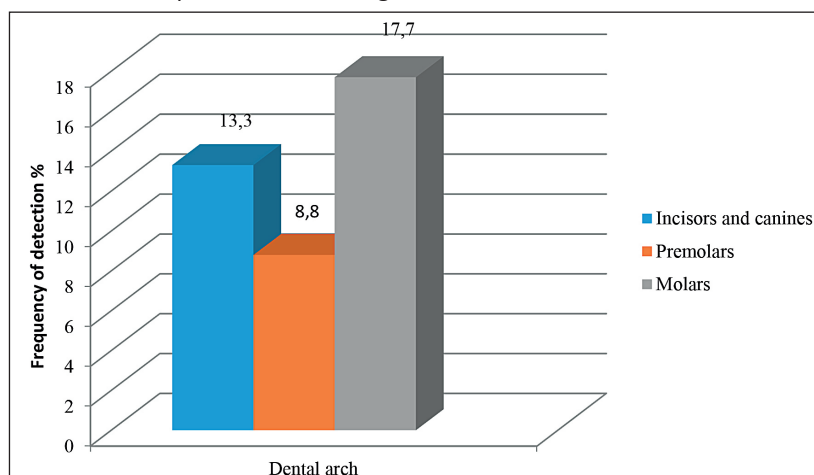


Figure 2 – Frequency of occurrence of radicular cysts in the mandible.

Analysis of computed tomography data six months after surgery showed that 8 patients (26.6%) in Group II and 7 patients (23.3%) in Group III exhibited no signs of bone defect repair, with 11 patients (18.3%) in both groups showing progression of inflammatory changes in the form of fistula formation. Only 9 patients (30%) in Group II and 8 patients (26.6%) in Group III demonstrated complete replacement with bone tissue, as evidenced by the formation of a trabecular pattern. In the remaining 13 patients (43.3%) in Group II and 15 patients (50%) in Group III, signs of peripheral bone tissue restoration were observed in approximately two-thirds of the defect, showing a pronounced trabecular pattern combined with areas of disordered calcification. At a follow-up examination 12 months later, bone tissue had completely regenerated in 7 of the 13 patients in Group II and 5 of the 15 patients in Group III, whereas in the remaining patients, the central part of the defect remained unchanged. This phenomenon was typically observed in patients with large cysts and defect walls composed solely of a sclerotic cortical bone layer.

Analysis of the bone tissue structure in Group I at the site of bone grafting, both 6 and 12 months after surgery, showed a pronounced trabecular pattern. Six months after cystectomy and bone grafting, in 21 of the 30 patients (70%) in Group I, the defect was completely restored with bone tissue, whereas in the remaining 7 patients (23.3%), bone tissue regeneration occurred in only approximately two-thirds of the bone cavity volume. One year after surgery, complete bone tissue regeneration was observed in 25 patients (83.3%), while in the remaining patients, regeneration occurred in two-thirds of the bone cavity. It should also be noted that in patients in Group I, where the method we developed was applied, complete restoration of the cortical bone layer was observed throughout (fig. 3).

Bone tissue density analysis was performed at 6 and 12 months after surgery (table 3).

Analysis of postoperative bone density dynamics showed no significant differences between Groups I and II at both 6 and 12 months of observation.

The most pronounced difference was observed between patients in Group III and the control group. Thus, six months after bone grafting, bone density in Group III was significantly lower than in the control group. Slightly lower density values were also observed in Groups I and II. This trend, in our opinion, is attributable to the presence of bone tissue that has not yet fully formed. However, twelve months after surgery, an increase in bone density was observed in the area of the former defect, corresponding to the values of intact bone.

A comparison of the density and structure of newly formed bone tis-

sue in Groups I and II revealed no significant differences, which can be attributed to the similar physiological processes of bone regeneration. However, an analysis of the volume of newly formed bone tissue and the area of the defect filled by this tissue showed that the total volume of restored bone was 70% in Group I, compared with only 30% in Group II and 26.6% in Group III at six months after surgery, thereby demonstrating the effectiveness of the developed technique. In our opinion, this is due, on the one hand, to the dense three-dimensional organisation of fibrin fibres and bone tissue granules formed during centrifugation, thanks to the filter design and centrifugal force, and, on the other hand, to the osteoinductive properties of the scaffold itself. It is, in our opinion, the osteoinductive properties of our scaffold that ensure uniform growth of the capillary network throughout the entire defect volume and create conditions for accelerated and simultaneous remodelling of bone tissue. This was further evidenced by the fully organised architecture of bone tissue with a pronounced trabecular pattern at 12 months, which in Group I resulted in complete closure of the defect in 83.3% of cases. This correlated with bone tissue density indicators, which in this group corresponded to those of intact bone, providing, in our opinion, radiological confirmation of complete bone regeneration. In contrast, in Groups II and III, complete bone tissue

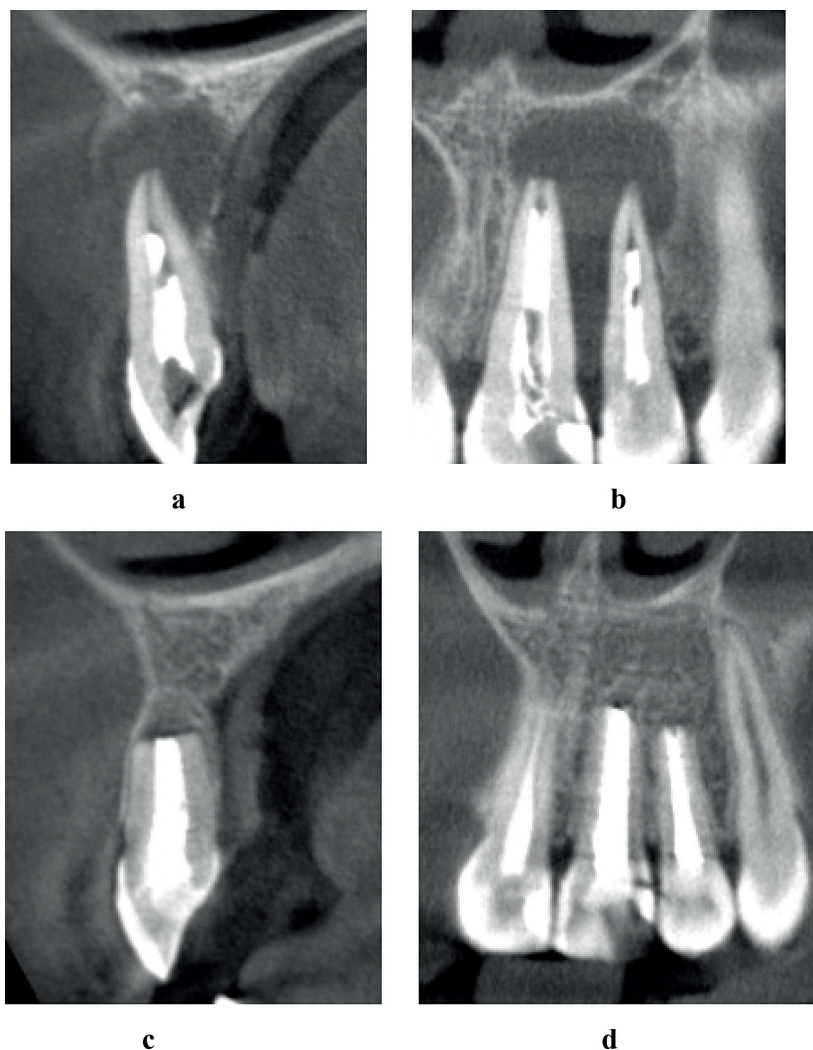


Figure 3 – Patient M., 20 years old (Group I). Diagnosis: radicular cyst of the left maxilla in the region of teeth 21, 22, and 23: a – computed tomography (transverse reconstruction of the area of tooth 22 before surgery); b – computed tomography (panoramic view of the defect area before surgery); c – computed tomography (transverse reconstruction of tooth 22, 12 months after surgery); d – computed tomography (panoramic view of the defect area, 12 months after surgery).

Table 3 – Bone mineral density values in Hounsfield units (HU) in patients from Groups I, II, and III at 6 and 12 months after surgery

Postoperative terms	Group I	Group II	Group III	Control
6 months	575.45±20.55 p>0.05	558.24±19.74 p>0.05	496.93±18.56 p<0.01	626.97±16.90
12 months	636.90±16.64 p>0.05	611.31±15.98 p>0.05	515.52±21.61 p<0.01	

Notes: p<0.05 compared with bone mineral density values in Groups I, II, and III relative to the control group.

regeneration was observed in only 53.3% and 43.3% of cases, respectively, after 12 months. Partial bone tissue recovery in Group II, we suggest, is due to faster regeneration in the bone–material contact zone, unlike the centre of the granular framework, where capillary network growth may occur at a later stage, creating a sort of “dead zone” with faster growth of connective tissue poor in capillaries, which competes with bone tissue. The results obtained differed slightly from those reported by other authors [4, 5, 6].

Conclusions.

1. The results of the experimental microbiological study indicate a more pronounced cumulative effect of lincomycin at low concentrations, as evidenced by higher values in both the pressed plasma fraction (18.75 mg/ml) and the fibrin matrix (9.4 mg/ml). These findings demonstrate the feasibility of applying this approach in the creation of a fibrin–bone scaffold using the method we developed.

2. Clinical and radiological analyses demonstrated the effectiveness of the method we developed, as reflected by complete bone tissue restoration in 83.3% of patients in Group I, compared with only 53.3% in Group II and 43.3% in Group III.

Prospects for further research.

Our findings demonstrate the effectiveness of this fundamental methodology. This approach could be further refined by incorporating additional osteoinductive components into the scaffold to accelerate bone tissue regeneration.

КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ДОЦІЛЬНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ КОМБІНОВАНОГО ФІБРИНО-КІСТКОВОГО СКАФФОЛДУ З ВИРАЖЕНИМ ЛОКАЛЬНИМ ПРОТИМІКРОБНИМ ЕФЕКТОМ

Івано-Франківський національний медичний університет (м. Івано-Франківськ, Україна)

yraevchuk77@gmail.com

У статті розглядається ефективність розробленої нової методики покращення ефективності кісткової аугментації при заміщенні дефектів кісткової тканини. Метою дослідження було встановлення ефективності відновлення кісткових дефектів щелеп ало-аутологічним матеріалом, отриманим шляхом одномоментного центрифугування гранул демінералізованого кістково-пластичного матеріалу і венозної крові пацієнта. Для клінічних досліджень були відібрані 90 хворих віком від 20 до 40 років з радикальними кістами щелеп. Усі пацієнти були розділені на I, II та III групи, яким проводили операцію цистектомію та кісткову пластику. В I групі використовували скаффолд, який готували за розробленим нами протоколом. Проведений мікробіологічний аналіз свідчив про більш виражений комюлятивний ефект лінкоміцину на малих концентраціях у відтиснутій фракції плазми 18,75 мг/мл та фібриновому матриксу 9,4 мг/мл. Результати наведених післяопераційних клінічних та рентгенологічних досліджень підтверджують ефективність розробленої нами методики. Про це свідчив високий відсоток 83,3% пацієнтів I групи з повним відновленням кісткового дефекту, що корелювало із показниками щільності кісткової тканини від 575,45+20,55 до 636,90+16,64 НУ, які відповідали інтактній кістці. Натомість, у II та III групах тільки у 16 (53,3%) та відповідно у 13 (43,3%) відмічалось повноцінне повне відновлення кісткової тканини. Проведений клінічний та рентгенологічний аналіз показав ефективність розробленої нами методики, на що вказували позитивні результати у вигляді повного відновлення кісткової тканини у 83,3% пацієнтів I групи та тільки у 53,3% пацієнтів II групи та 43,3% пацієнтів у III групі.

Ключові слова: кісткова тканина, регенерація кісткової тканини, кістково-пластичний матеріал, кісткова пластика, радикальна кіста, мікробіологічне дослідження, протимікробний ефект.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи «Клініко-експериментальне обґрунтування сучасних методів діагностики, профілактики та лікування стоматологічних захворювань», номер державної реєстрації 0124U003547.

Вступ.

На сьогоднішній день суттєво зростає потреба у інженерії кісткової тканини. Як правило це пов'язано із хронічними запальними процесами щелепно-лицевої ділянки, серед яких найчастіше зустрічаються хронічні форми остеомієліту та радикальні кісти. Саме ці патології найчастіше призводять до руйнування кісткової тканини [1, 2, 3].

На сьогоднішній день в хірургічній практиці при відновленні кісткової тканини застосовують різні імплантатційні матеріали. Як правило, це остеокондуктивні, біорозкладні скаффолди на основі трикальцій-фосфату та гідроксиапатиту [4, 5, 6]. Проте, при застосуванні вказаних матеріалів та стандартних методик, існує проблема відновлення повноцінної структури кісткової тканини, що пов'язано з несвоєчасною деградацією грануляту та розвитку гіперостозу кісткової тканини або формування сполучної тканини навколо імплантованих гранул. Деякі дослідження також вказують на важливість застосування таких структурних матеріалів в якості носія клітин [7, 8, 9].

Аналіз літературних даних вказує на всебічно зростаючий інтерес до аутологічних матеріалів, які на сьогоднішній день є «золотим стандартом» реконструктивних технологій. Це пов'язано із такими критеріями, як гістосумісність, відсутність токсичності

та присутність певних факторів, які прямо чи опосередковано впливають на процеси загоєння ран. До таких перспективних біоматеріалів можна віднести PRF (Platelet Rich Fibrin), що має ряд переваг, до яких відноситься посилене вивільнення білків і факторів росту, проліферація фібробластів, їх здатність до міграції та експресії факторів росту [10, 11, 12, 13, 14]. Застосування вказаних матеріалів проводилось як при заповненні постекстракційних дефектів при видаленні третіх молярів [15], так і при інших хірургічних втручаннях [16, 17, 18]. Вказаний тип плазми застосовувався і у гелеподібній формі, і в ін'єкційній [18, 19, 20].

Окрім практичного клінічного застосування, на сьогоднішній день продовжуються лабораторні дослідження властивостей вказаного аутологічного матеріалу. Так, зокрема, авторами Crisci A, Barillaro MC було встановлено, що L-PRF (багата фібрином, тромбоцитами і лейкоцитами) та її похідні (A-PRF, i-PRF) є корисними як основа стовбурових клітин при регенерації ран [21, 22]. Так, зокрема, застосування PRF технології у поєднанні з кістково-пластичним матеріалом створює оптимальні умови для регенерації кісткової тканини. Наприклад, цікавими є результати досліджень Kim BJ, Kwop TK та інших, автори якого оцінювали матрикс багатий тромбоцитами та фібрином (PRF), змішаний з трикальцій фосфатом і рекомбінантним морфогенним білком 2 людської кістки (rhBMP-2) та його потенціал для посилення регенерації кісткової тканини при синус-ліфті [23]. Проте, аналіз існуючих методик показав, що при застосуванні PRF технології у поєднанні з кістково-пластичним матеріалом, як правило, застосовується так званий ін'єкційний PRF, оскільки тільки при такій консистен-

ції можливо повноцінно поєднати гранулат кістки та збагачену факторами росту плазму.

Недоліком такої методики є відсутність механічної стабільності такого гібридного, комбінованого скаффолду. Інша методика, навпаки, при центрифугуванні призводить до утворення механічно стабільного гелеподібного каркасу у пробірці. Так, авторами De Almeida Nóbrega Correia Pascoal, M було проведено порівняльний аналіз міцності на розрив тромбоцитарних концентратів між двома різними аутологічними концентратами тромбоцитів (фібрин, збагачений лейкоцитами та тромбоцитами проти фібрину, збагаченого тромбоцитами) [24, 25]. Проте, повноцінно замішати з кістковою тканиною такий вид гелеподібного PRF неможливо.

Також потрібно відмітити, що проведення оперативних втручань у ротовій порожнині диктує ряд вимог, не тільки до самої оперативної техніки, але і до впливу на бактеріальну флору. Так, в останні роки суттєво зріс інтерес до матеріалів із локальним контрольованим вивільненням антибіотиків. Зокрема були спроби розширити цю антибактеріальну властивість шляхом додавання антибіотиків до венозної крові пацієнта, а саме, використовувати PRF як антибактеріальний носій, для досягнення уповільненого вивільнення активного інгредієнта в місці доставки [26, 27].

На нашу думку, поєднання механічно стабільного фібринового PRF матриксу з інтегрованим кістково-пластичним матеріалом та антибіотиком дозволить з однієї сторони забезпечити стабільність такого скаффолду в кістковому дефекті та завдяки факторам росту призведе до стимуляції регенерації кісткової тканини, а з іншої буде виконувати функцію локальної доставки ліків в рану.

Мета дослідження.

Встановити ефективність відновлення кісткових дефектів щелеп ало-аутологічним матеріалом, отриманим шляхом одномоментного центрифугування гранул демінералізованого кістково-пластичного матеріалу і венозної крові пацієнта.

Об'єкт і методи дослідження.

Для отримання скаффолду створеного одночасним центрифугуванням крові пацієнта та кістково-пластичного матеріалу було використано відповідний розроблений титановий фільтр із легкого біосумісного титанового сплаву Ti-6Al-4V (Патент № 152966. A61L 33/00. Опубл. 03.05.2023, бюл. № 18).

Для клінічних досліджень були відібрані 90 пацієнтів віком від 20 до 40 років із радикарними кістами щелеп. Для достовірного аналізу динаміки відновлення дефекту при відборі пацієнтів також враховувався розмір дефекту, який не перевищував 30 мм. Всі пацієнти які нами були обстежені були практично здорові без патологічного стану слизової оболонки порожнини рота та супутньої соматичної патології. Також на момент хірургічного лікування в ділянці оперативного втручання були відсутні ортопедичні конструкції. Також відбирались пацієнти без зловживання тютюнопалінням та незадовільною гігієною ротової порожнини, тобто факторів, які прямо чи опосередковано могли б вплинути на результати проведених досліджень.

З метою визначення ефективності отриманих нами комбінованих матриксів усі пацієнти були роз-

ділені на три групи з урахуванням застосування тої чи іншої методики. В I групі були (n=30) пацієнтів, яким проводили цистектомію у поєднанні з кістковою пластиною за відомою методикою. Проте, при виготовленні самого скаффолду застосовували розроблений нами протокол (патент № 158126. A61L 31/00, A61L 33/00. Опубл. 01.01.2025, бюл. № 1) із використанням розробленого фільтру, кістково-пластичного матеріалу та колагенової мембрани. В II групу входили (n=30) пацієнтів, яким проводили цистектомію у поєднанні з кістковою пластиною за стандартною методикою. В якості кістково-пластичного матеріалу використовували демінералізований гранулат CenoBone® (виробництво Cenobiologics Ltd) та ізолюючу колагенову мембрану CenoMembrane®. В III групу входили (n=30) пацієнтів, яким проводили цистектомію без використання кістковопластичного матеріалу проте з використанням колагенової мембрани CenoMembrane® виробництва Ceno Biologics.

Згідно розробленого протоколу у I групі спочатку проводили забір венозної крові у пацієнта в пробірку з активатором плазми. Для даної методики вибирали скляні вакуумні пробірки, наприклад MM Medic. Далі в середину пробірки поміщали розроблений пристрій та засипали гранули демінералізованого кістково-пластичного матеріалу CenoBone® продукції компанії Ceno Biologics. Після чого пробірку щільно закривали, поміщали в центрифугу та здійснювали центрифугування спочатку 12 хвилин на швидкості 2500 об/хв, після чого 3 хвилини на швидкості 3000 об/хв.

Після центрифугування еритроцитарна маса залишалась в нижній третині пробірки, проходячи через пори між гранулами кістково-пластичного матеріалу та через фільтруючу частину пристрою. Проте, гранули кістково-пластичного матеріалу залишались на поверхні фільтруючої частини пристрою. У верхній половині пробірки утворився організований фібриновий матрикс з тромбоцитами та факторами росту з інтегрованими в нього гранулами кістково-пластичного матеріалу. Після центрифугування комбінований скаффолд виймали з пробірки та вносили в ділянку кісткового дефекту, закриваючи ізолюючою колагеновою мембраною CenoMembrane® виробництва Ceno Biologics.

Ефективність розробленої нами методики оцінювали за клінічними та рентгенологічними показниками.

Ранні клінічні результати у пацієнтів I, II та III групи в післяопераційному періоді оцінювали за такими показниками як наявність болю, набряку, виділення ексудату по лінії розрізу та розходження країв рани. Рентгенологічне дослідження проводили як до оперативного втручання, так і через 6 та 12 місяців після проведеної операції. Для оцінки щільності та структури кісткової тканини використовували дані комп'ютерної томографії. Аналіз щільності новоутвореної кісткової тканини за Хаунсфілдом ГН (1919) (HU) та її структури проводили в програмному забезпеченні SimPlant Pro 11.04. З метою порівняння показників щільності кісткової тканини нами аналізувались інтактні ділянки щелеп. Додатково відбирали архів даних комп'ютерної томографії 30 пацієнтів контрольної групи без патології щелепових кісток. Розмірні параметри одонтогенних кіст визначались лінійними роз-

мірами ширини, висоти та глибини у трьох взаємно перпендикулярних напрямках.

У всіх пацієнтів при операції був проведений оперативний доступ шляхом кутоподібного або трапецієподібного розрізу з наступною цистектомією та резекцією верхівки кореня (за потреби), після чого слизово-окісний лоскут укладали на місце та фіксували швами. Дослідження проводилось згідно з принципами Гельсінської декларації Всесвітньої охорони прав людини, конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та положенням відповідних законів України. Протокол дослідження погоджено Локальним етичним комітетом для всіх хто брав участь. На проведення дослідження, а також збір та обробку даних про пацієнтів було отримано їхню письмову інформовану згоду.

З метою вивчення можливості надання отриманим за нашою методикою скаффолдам властивостей локального протимікробного ефекту було проведено експериментальне мікробіологічне дослідження.

Збір крові у пацієнта для експериментального мікробіологічного дослідження проводився безпосередньо перед оперативним втручанням разом із заборою крові, що використовується для кісткової пластики. З метою вивчення насичення антибіотиками фібринового каркасу отриманого за розробленою нами методикою було проведено мікробіологічне дослідження із застосуванням трьох видів остеотропних антибіотиків: Цефазоліну (Борщагівський ХФЗ, Україна, 250 мг/мл) Лінкоміцину (Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна, 300 мг/мл), та Ципрофлоксацину (Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна, 2 мг/мл). Вказані антибіотики вносили в пробірку з венозною кров'ю перед центрифугуванням. Далі кров з антибіотиками центрифугували за вказаним вище протоколом: 12 хвилин на швидкості 2500 об / хв, після чого 3 хвилини на швидкості 3000 об / хв. Отримані нами під час центрифугування зразки фібринового матриксу були імпрегновані антибіотиком в процесі центрифугування з розрахунку наступних концентрацій: 7,8 мл крові + 0,2 мл антибіотика; 7,6 мл крові + 0,4 мл антибіотика; 7,4 мл крові + 0,6 мл антибіотика; 7,2 мл крові + 0,8 мл антибіотика. Концентрацію антибіотиків для імпрегнації в зразки матриксних матеріалів встановлювали з врахуванням чутливості до даних препаратів сенсорної мікробної культури.

В якості біосенсора для визначення концентрацій антибіотиків використано антибіотикочутливий клінічний штам *S. aureus*. Вказаний штам ідентифіковано на основі комплексу морфологічних і культуральних властивостей, а також біохімічних мікротестів «STAPHYtest 16» (Lachema, Чехія) відповідно до рекомендацій Bergey's manual of systematics of Archaea and Bacteria [28]. Методом серійних мікророзведень в бульйоні встановлено значення MIC (мінімальних пригнічуючих концентрацій) використаних у дослідженні антибіотиків для цього штаму: цефазоліну – 0,305 мкг/мл, лінкоміцину – 5,86 мкг/мл, ципрофлоксацину – 0,156 мкг/мл.

Для оцінки насичення антибіотиком фібринового каркасу вивчали його розподіл між різними фазами експериментальної системи. Для визначення концентрації антибіотиків в кожному експерименті відбирали 3 зразки із верхньої фракції: сироватку крові,

яка утворилася відразу після центрифугування, сироватку крові виділену (шляхом віджимання) із сформованого фібринового згустка та елюат відтиснутого фібринового згустка. Для отримання елюату відтиснутий згусток зважували у стерильних умовах, після чого до нього додавали стерильний фізіологічний розчин в об'ємі, еквівалентному значенню маси (м/в 1:1). Елюцію антибіотика здійснювали на шейкері MR-1 (SIA BIOSAN, Латвія) при частоті перемішування 20 об/хв впродовж 10 хв. при кімнатній температурі.

Оцінку вмісту антибіотика у досліджуваних зразках здійснювали на основі досліджень за протоколами диско-дифузійного тесту Kirby-Bauer [29] і методу серійних мікророзведень в бульйоні [29, 30] з використанням сенсорної культури *S. aureus*. Диско-дифузійний тест виконували на чашках Петрі з агаром Мюллера–Хінтона (HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Індія). На поверхню середовища поміщали стерильні паперові диски, на які вносили по 2 мкл відібраних зразків сироватки (не розведених та розведених 1:10 і 1:100). Крім того, на поверхню середовища наносили відтиснуті фібринові згустки і диски з антибіотиками (ТОВ «Фармактив», Україна). Діаметри зон затримки росту тест-культури визначали після культивування в термостаті при температурі 37°C впродовж 24 год. Обробку цифрових зображень посівів на чашках здійснювали за допомогою комп'ютерної програми UTHSCSA ImageTool 2.0 (The University of Texas Health Science Center in San Antonio, ©1995-1996). За допомогою дослідження методом серійних мікророзведень в бульйоні [29, 30] визначали концентрацію антибіотика у зразках. Засіяні планшети інкубували при температурі 37°C в статичному інкубаторі MIR-162 (SANYO Electric Biomedical Co. Ltd., Японія) впродовж 24 год. Наявність росту культур в лунках оцінювали на основі приросту оптичної густини середовища (OD), яку реєстрували за допомогою багаторежимного спектрофотометра Synergy™HTX (BioTek Instruments Inc., США) при довжині хвилі 600 нм відразу після посіву та після 24-годинної інкубації.

Усі мікробіологічні експерименти виконували тричі. Статистичний аналіз числових даних проводився за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 2019 (Microsoft Office 2019 (Microsoft)). Для перевірки значущості відмінностей між досліджуваними зразками застосовано однофакторний дисперсійний аналіз Welch's ANOVA Test. Для оцінки достовірності відмінностей в отриманих результатах у порівнянні з контрольною групою використовувався параметричний t-критерій (критерій Стюдента) з поправкою Бонферроні для множинного тестування. Достовірність різниці в якісних даних між групами порівняння визначалася також за результатами розрахунку критерію хі-квадрат з поправкою Єйтса на неперервність. Достовірним вважалося значення $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення.

Контрольні дослідження, виконані із зразками, отриманими після формування фібринового згустка у системі «кров + ізотонічний розчин», показали абсолютну відсутність пригнічення росту сенсорної культури стафілокока. На противагу цьому усі протестовані зразки з антибіотиками показали значну антибактеріальну активність ($p < 0,05$) (табл. 1).

Таблиця 1 – Протимікробна активність елементів фібринового згустка, насиченого цефазоліном (діаметри зон пригнічення росту сенсорної культури *S. aureus*, мм)

Досліджені зразки		Розрахована концентрація CZO у зразках, мкг/мл	Розведення зразків		
			Не розведений	1:10	1:100
Контроль антибіотику	CZO	250	40.19±0,37	34.15±0,51	28.06±0,45
Контроль 7,2 мл крові + 0,8 мл ізотонічного розчину	Сироватка	0	0	0	0
	Сироватка із згустка		0	0	0
	Відтиснутий тромб		0	NT	NT
7,8 мл крові + 0,2 мл CZO	Сироватка	6,25 (розведення 1:40)	34.70±0,79 ^{*/†}	26.23±0,28 ^{*/†}	18.61±0,26 ^{*/†}
	Сироватка із згустка		31.48±0,31 ^{*/†}	23.98±0,49 ^{*/†}	16.72±0,11 ^{*/†}
	Відтиснутий тромб		46.71±1,53 ^{*/†}	NT	NT
7,6 мл крові + 0,4 мл CZO (розведення CZO 1:20)	Сироватка	12,5 (розведення 1:20)	29.97±0,34 ^{*/†}	26.12±0,27 ^{*/†}	17.16±0,22 ^{*/†}
	Сироватка із згустка		29.14±0,25 ^{*/†}	25.39±0,28 ^{*/†}	16.34±0,17 ^{*/†}
	Відтиснутий тромб		44.53±0,52 ^{*/†}	NT	NT
7,4 мл крові + 0,6 мл CZO	Сироватка	18,75 (розведення 1:13)	28.02±0,26 ^{*/†}	22.83±0,43 ^{*/†}	18.06±0,42 ^{*/†}
	Сироватка із згустка		32.10±0,27 ^{*/†}	23.67±0,32 ^{*/†}	18.16±0,35 ^{*/†}
	Відтиснутий тромб		41.09±0,48 [†]	NT	NT
7,2 мл крові + 0,8 мл CZO	Сироватка	25 (розведення 1:10)	29.62±0,17 ^{*/†}	25.06±0,19 ^{*/†}	17.56±0,23 ^{*/†}
	Сироватка із згустка		29.98±0,25 ^{*/†}	22.43±0,32 ^{*/†}	16.63±0,26 ^{*/†}
	Відтиснутий тромб		39.27±0,40 [†]	NT	NT

Примітки: NT – спресований згусток тестували у цільній формі, без розведень; * – $p < 0,05$ при порівнянні з контрольним розчином CZO; [†] – $p < 0,05$ при порівнянні з контролем без антибіотику.

Антибактеріальний ефект відносно сенсорної культури *S. aureus* було виявлено в усіх відібраних зразках. При цьому діаметри зон затримки росту сенсорної культури під впливом зразків сироватки (як одержаної шляхом природної ретракції тромба, так і відтиснутої з тромба після його пресування) були достовірно ($p < 0,05$) меншими, порівняно із зонами, які дало тестування розчину цефазоліну, використаного для насичення. Цей результат є цілком закономірним, він відображає рівномірний розподіл антибіотику в усьому об'ємі зразків крові, використаної для утворення PRF.

Аналіз концентрацій антибіотиків у зразках крові проказав певну залежність між імпрегнованою кількістю антибіотику типом препарату та динамікою збільшення його концентрації в крові (табл. 2).

В експериментах по насиченню PRF цефазоліном при додаванні до 7,8 мл крові 0,2 мл розчину цефазоліну 250 мг/мл процес інкорпорації антибіотику у фібриново-тромбоцитарний матрикс відбувався слабо. Лише при додаванні від 0,6 мл цефазоліну спостерігали його рівномірний розподіл між усіма елементами системи. На відміну від цефазоліну, лінкоміцин значно активніше насичував фібриново-тромбоцитарний згусток. Так, при застосуванні менших доз (0,4 мл) цього препарату, спостерігали його активну інкорпорацію в структуру PRF. Ципрофлоксацин, навпаки, продемонстрував свою неохочість до інкорпорації у білковий каркас PRF. Його концентрації в елюатах відтиснутих згустків при усіх варіантах постановки експерименту були в 4-16 разів нижчими, ніж у відповідних зразках відпресованих сироваток, і в 4-32 рази нижчими, ніж у ретрагованих сироватках ($p < 0,05$).

Додавання в експериментальну систему високих доз розчинів антибіотиків (0,8 мл / 7,2 мл крові) погано відображалось на механічних властивостях сформованих згустків, що призводило до утворення дуже ніжного і механічно нестабільного фібринового каркасу. Нами встановлено, що оптимальними режимами насичення є коінкубація 0,4 мл або 0,6 мл розчину антибіотику. Про можливий потенційний вплив антибіотиків на характер формування фібринового матриксу, а саме на його структуру вказували і Polak D, Clemer-Shamai N, Shapira L. Автори довели негативний вплив на фібриновий матрикс великих концентрацій антибіотиків в крові, а саме до 1 мл,

Таблиця 2 – Концентрація антибіотиків в елементах фібринових згустків при використанні різних режимів насичення

Склад експериментальної системи		Розрахована концентрація антибіотика в системі, мг/мл	Встановлена концентрація антибіотика, мг/мл		
Антибіотик	Кров		Сироватка після ретракції згустка	Сироватка, відпресована із згустка	Пресований згусток
Цефазолін, 250 мг/мл					
0,2 мл	7,8 мл	6.25	3.91	1.95*	0.49*
0,4 мл	7,6 мл	12.5	3.91	7.81*	1.95*
0,6 мл	7,4 мл	18.75	15.63	15.63	15.63
0,8 мл	7,2 мл	25.0	7.81	15.63	3.91*
Лінкоміцин, 300 мг/мл					
0,2 мл	7,8 мл	7.5	4.7	4.7	4.7
0,4 мл	7,6 мл	15.0	9.4	18.75*	9.4
0,6 мл	7,4 мл	22.5	9.4	18.75*	4.7*
0,8 мл	7,2 мл	30.0	18.75	9.4*	18.75
Лінкоміцин, 300 мг/мл					
0,2 мл	7,8 мл	50	0.0625	0.0156*	0.0039*
0,4 мл	7,6 мл	100	0.125	0.0625*	0.0039*
0,6 мл	7,4 мл	150	0.125	0.0625*	0.0156*
0,8 мл	7,2 мл	200	0.125	0.250*	0.03125*

Примітки: 1. Концентрації антибіотиків розраховані на основі середніх значень оптичної щільності культур, одержаних при виконанні 3 незалежних експериментів; 2. * – $p < 0,05$ при порівнянні з концентрацією антибіотику в сироватці, одержаній після природної ретракції згустка отриманого центрифугуванням.

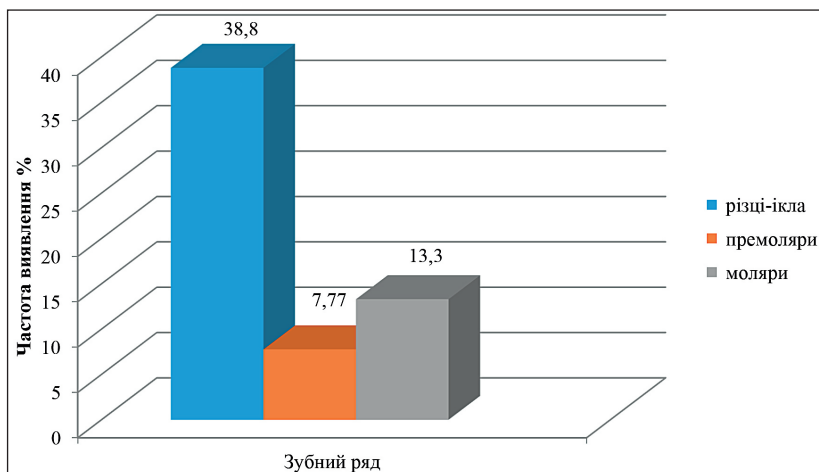


Рисунок 1 – Частота виникнення радикулярних кіст на верхній щелепі.

тоді як додавання 0,5 мл суттєво не вплинуло на властивості PRF [26]. Виходячи із проведених авторами досліджень та порівнюючи з нашими спостереженнями можна зазначити, що оптимальною концентрацією антибіотика для імпрегнації фібрино-кісткових скаффолдів є кількість до 0,4 мл лінкоміцину. На доцільність малих концентрацій препарату також наголошували і Shaochuan Wang, Youbin Li [27].

Серед усіх 90 пацієнтів із радикулярними кістами щелеп 48 (53,33%) відмічались у чоловіків та 42 (46,67%) у жінок. Із загальної кількості вказаних пацієнтів кісти найчастіше виникали у віковій категорії 30-40 років і становили від усіх хворих 75,55%, на решту від 20 до 30 років припадало 24,45%.

Проведений аналіз скарг пацієнтів виявив переважання безсимптомного перебігу патології у 61 (67,77%). Проте, в 29 (32,22%) при зборі анамнезу хвороби в минулому турбував періодичний біль та набряк в ділянці локалізації патологічного процесу. У невеликої кількості пацієнтів 5 (5,55%) спостерігали порушення чутливості нижньої губи та підборідкової ділянки (симптом Венсана) у поєднанні з больовими відчуттями.

На основі даних комп'ютерної томографії нами було проведено аналіз лінійних розмірів радикулярних кіст щелеп, який показав, що серед усіх обстежених виявлялись кісти розміром від 15 до 30 мм. Найбільший відсоток становили дефекти розміром до 20 мм і відповідно складали від усіх обстежених 61 (67,77%). Відповідно менший відсоток 19

(21,11%) становили кісткові дефекти розміром до 25 мм. Та найрідше 10 (11,11%) виникали радикулярні кісти до 30 мм.

Аналіз відсоткового співвідношення розташування радикулярних кіст на верхній та нижніх щелепах показав деяку відмінність. Детальний аналіз розташування кіст показав, що на верхній щелепі частота виникнення радикулярних кіст становила 54 (60%), на відміну від нижньої, де відсоток становив 36 (40%). На основі проведених рентгенологічних обстежень встановлено, що серед кіст верхньої щелепи найбільш часто зустрічались у ділянці фронтальної групи зубів: від центральних різців до ікол 35 (38,8%). За ними в напрямку зменшення частоти кісти у ділянці перших та других молярів 12 (13,3%) та обох премолярів верхньої щелепи 7 (7,7%) (рис. 1).

При обстеженні нижньої щелепи, навпаки, найбільш частіше радикулярні кісти щелеп виникали в ділянці молярів 16 (17,7%) та фронтальної групи зубів 12 (13,3%). Менш частіше виявляли радикулярні кісти нижньої щелепи у ділянці премолярів 8 (8,8%) (рис. 2).

Аналіз клінічних даних I, II та III груп показав деяку різницю між обома групами. Так, на 3-у добу обстеження у всіх пацієнтів I, II та III груп відмічалось наростання колатерального набряку. Проте, у 7 (26,6%) пацієнтів II групи та 6 (20%) III групи на 3-4 доби з'явилися серозні виділення по лінії розрізу, у 3 (10%) пацієнтів II групи та 5 (16,6%) III групи відмічалось незначне розходження швів. Натомість, у I групі тільки у 4 (13,3%) пацієнтів у вище вказаному терміні з'явилися незначні серозні виділення з операційної рани, а саме, з лінії розрізу. На 6-7 доби після цистектомії та кісткової пластики з 7 пацієнтів II групи тільки у 5 (16,6%) та 6 (20%) III групи відмічались незначні виділення з операційної рани, натомість у I групі вказані зміни відмічались тільки у 2 (6,6%) пацієнтів. При повторному клінічному огляді на 12-14 добу у 5 (16,6%) пацієнтів II групи, 6 (20%) III групи та 2 (6,6%) пацієнтів I групи залишилися запальні зміни у вигляді незначних виділень ексудату з післяопераційної рани. Отже, аналізуючи вказані клінічні дані, можна

зробити висновок, що серозні виділення у пацієнтів в післяопераційному періоді, на нашу думку, могли бути пов'язані з інфікуванням зони кісткової пластики як із наявною інфекцією в рані внаслідок патологічного процесу, так і повторним інфікуванням від кореневих каналів, так і внаслідок розходження швів операційної рани.

Проведений аналіз даних комп'ютерної томографії на 6 місяць після проведеного оперативного втручання показав у 8 (26,6%) пацієнтів II групи та 7 (23,3%) пацієнтів III групи відсутність ознак відновлення кісткового дефекту, з яких у 11 (18,3%) пацієнтів обох груп

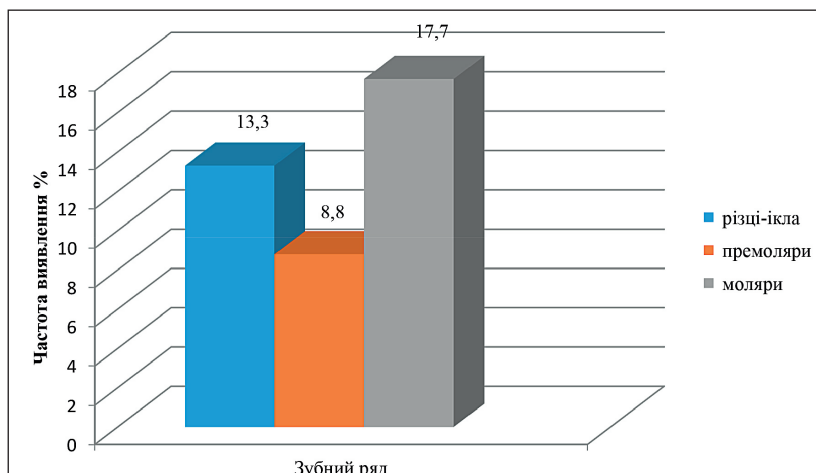


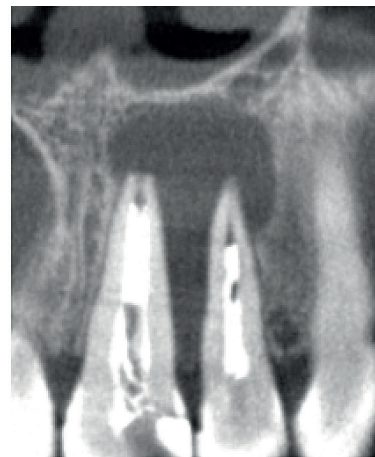
Рисунок 2 – Частота виникнення радикулярних кіст на нижній щелепі.

підтверджувалось прогресуванням запальних змін у вигляді формування норицевого ходу. Тільки у 9 (30%) пацієнтів II групи та 8 (26,6%) III групи відмічались ознаки повного заміщення кістковою тканиною, про що свідчило формування трабекулярного малюнку. У решти 13 (43,3%) пацієнтів II групи та 15 (50%) пацієнтів III групи відмічались ознаки периферичного відновлення кісткової тканини на 2/3 як з вираженим трабекулярним малюнком у поєднанні з зонами вираженої неупорядкованої кальцифікації. При повторному обстеженні через 12 місяців пацієнтів II групи у 7 з 13 пацієнтів та 5 з 15 пацієнтів III групи кісткова тканина відновила повністю, у решти центральної частини дефекту залишилась без видимих змін. Вказаний факт, як правило, відмічався у пацієнтів із кістами великих розмірів та стінками дефекту, представленими тільки склерозованим кортикальним шаром кістки.

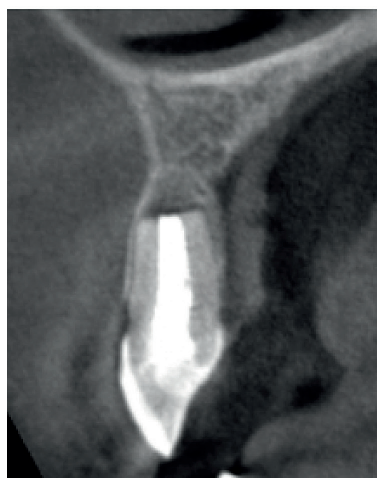
Аналіз структури кісткової тканини I групи в зоні проведеної кісткової пластики як на 6-му так і на 12-му місяці після операції показав присутність вираженого трабекулярного малюнку. Так, через 6 місяців після цистектомії та кісткової пластики, з 30 пацієнтів I групи у 21 (70%) дефект повністю був відновлений кістковою тканиною, у решти 7 (23,3%) регенерація кісткової тканини відбулась тільки на 2/3 від об'єму кісткової порожнини. Через рік після оперативного втручання



a



b



c



d

Рисунок 3 – Пацієнт М. 20 р. (I група). Діагноз: радикулярна кіста верхньої щелепи зліва в ділянці 21, 22 та 23 зубів: а – комп'ютерна томографія (трансверсальна реконструкція ділянки 22 зуба до операції); б – комп'ютерна томографія (панорамна розгортка ділянки дефекту до операції); с – комп'ютерна томографія (трансверсальна реконструкція ділянки 22 зуба через 12 місяців після операції); д – комп'ютерна томографія (панорамна розгортка ділянки дефекту через 12 місяців після операції).

Таблиця 3 – Показники щільності кісткової тканини в одиницях Хаунсфілда (НУ) у хворих I, II та III груп через 6 та 12 місяців після оперативного втручання

Післяопераційні терміни	Група I	Група II	Група III	Контроль
6 місяців	575.45±20.55 p>0.05	558.24±19.74 p>0.05	496.93±18.56 p<0.01	626.97±16.90
12 місяців	636.90±16.64 p>0.05	611.31±15.98 p>0.05	515.52±21.61 p<0.01	

Примітки: p<0,05 при порівнянні показників щільності кісткової тканини I, II та III груп із групою контролю.

повне відновлення кісткової тканини відбулось у 25 (83,3%) пацієнтів, а у решти на 2/3. Також потрібно відмітити, що у пацієнтів I групи, де було застосовано розроблений нами метод, відмічалось повне відновлення кортикального шару кісткової тканини на всьому протязі (рис. 3).

Аналіз щільності кісткової тканини проводили на 6-й та 12-й місяці після оперативного втручання (табл. 3).

Аналіз динаміки показників щільності кісткової тканини в післяопераційному періоді не показав сут-

тевої різниці між I та II групами пацієнтів як на 6, так і на 12 місяцях спостережень.

Найбільш виражена різниця відмічалась між пацієнтами III групи та групою контролю. Так, на 6-му місяці після проведеної кісткової пластики, щільність кісткової тканини III групи була достовірно меншою за щільність у контрольній групі. Дещо менші показники щільності були і в I та II групах також. Вказана тенденція, на нашу думку, обумовлена хоча і наявною, проте ще не до кінця сформованою кістковою тканиною. Натомість, через 12 місяців

після проведеного оперативного втручання навпаки, відмічалось збільшення щільності кісткової тканини в ділянці колишнього дефекту, що відповідало інтактним показникам.

Порівняння щільності та структури новоутвореної кісткової тканин в I та II групах не виявило між собою суттєвих відмінностей, що обумовлено однаковими фізіологічними процесами регенерації кістки. Проте, якщо аналізувати об'єм новоутвореної кісткової тканини та площу дефекту, яку виповнює новоутворена кістка, то різниця при повному об'ємі відновленої

кістки між 70% позитивного результату у I групі та тільки 30% позитивного результату в II групі та 26,6% у III групі на 6-му місяці після операції доводить ефективність розробленої методики. Вказаний факт, на нашу думку, обумовлений з однієї сторони щільною тривимірною організацією фібринових волокон та гранул кісткової тканини, що сформувались під час центрифугування завдяки конструкції фільтру та відцентровій силі, а з іншої сторони, остеоіндуктивними властивостями самого скаффолду. Саме остеоіндуктивні властивості нашого скаффолду, на нашу думку, забезпечують рівномірне проростання капілярної сітки по всьому об'єму дефекту та створює умови для пришвидшеного та рівномірного одночасного ремоделювання кісткової тканини. Про це також свідчила і повноцінна організована архітектура кісткової тканини з вираженим трабекулярним малюнком на 12 місяці, яка в I групі у 83,3% випадків повністю закривала дефект. Це корелювало із показниками щільності кісткової тканини, які в даній групі пацієнтів відповідали інтактній кістці, що на нашу думку було рентгенологічним підтвердженням повноцінної кісткової регенерації. У II та III групах навпаки, через 12 місяців повне відновлення кісткової тканини відмічалося тільки у 53,3% та 43,3% випадках. Натомість, часткове відновлення кісткової тканини в II групі, на нашу думку, обумовлене більш швидкою регенерацією в зоні контакту кістка-матеріал на відміну від центру гранулярного каркасу, де проростання капі-

лярної сітки може відбуватись на більш пізніх термінах та може створюватись своєрідна «мертва зона» із швидшим проростанням сполучної тканини бідної на капіляри, яка конкурує з кістковою тканиною. Отримані результати дещо відрізнялись від робіт інших авторів [4, 5, 6].

Висновки.

1. Результати проведеного експериментального мікробіологічного дослідження свідчать про більш виражений кумулятивний ефект у лінкоміцину на малих концентраціях, про що свідчили більш високі показники, як у відтиснутій фракції плазми 18,75 мг/мл, так і в фібриновому матриксу 9,4 мг/мл. Вказані результати доводять можливість застосовувати вказаний підхід у процесі створення фібрино-кісткового скаффолду за розробленою нами методикою.

2. Проведений клінічний та рентгенологічний аналіз показав ефективність розробленої нами методики, на що вказували позитивні результати у вигляді повного відновлення кісткової тканини у 83,3% пацієнтів I групи та тільки у 53,3% пацієнтів II групи та 43,3% пацієнтів у III групі.

Перспективи подальших досліджень.

Отримані нами дослідження свідчать про ефективність цієї розробленої базової методики. Вказаний підхід можна змінювати шляхом подальших модифікацій самого каркасу додатковими остеоіндуктивними компонентами для пришвидшення регенерації кісткової тканини.

References / Література

- Korniyenko MM. Vedennya rannoho pislyaooperatsiynoho periodu pisly tsystektomiya iz zastosuвання preparatu na osnovi benzydaminu hidrokhlorydu. Novyny stomatolohiyi. 2015;2:45-8. [in Ukrainian].
- Lytvynets-Holuyak UYe. Doslidzhennya makro- ta mikroelementnoho statusu u khvorykh na odontohenni kysty. Aktualni problemy suchasnoyi medytyny: Visnyk Ukrayinskoyi medychnoyi stomatolohichnoyi akademiyi. 2013;3(43):47-50. [in Ukrainian].
- Ruzin GP, Tkachenko OV. Klinicheskoye proyavleniya toksicheskogo osteomyelita v zavisimosti ot davnosti upotrebleniya narkotika. Ukrainskiy stomatologichnyi almanakh. 2015; 1: 47-52. [in Ukrainian].
- Avetkov DS, Stavitskiy SA, Lokes KP, Yatsenko IV. Otsinka efektyvnosti auhmentatsiyi alveolyarnoho hrebnya na etapi pidhotovky do dentalnoyi implantatsiyi. Visnyk problem biolohiyi i medytyny. 2016;1(131):240-2. [in Ukrainian].
- Pavlenko AV, Dmitriyeva EA, Luzin VI. Gistologicheskoye stroyeniye regenerata pri zapolnenii kostnogo defekta materialami easygraft i trikaltsiyfosfatom. Morfolohiya. 2011;5(2):49-54. [in Ukrainian].
- Pavlenko OV, Dmitriyeva YeO. Morfolohichni osnovy vyboru kistkovoplastychnykh materialiv u parodontolohiyi. Morfolohiya. 2011;5(1):5-12. [in Ukrainian].
- Berwig KH, Baldasso C, Dettmer A. Production and characterization of poly(3-hydroxybutyrate) generated by *Alcaligenes latus* using lactose and whey after acid protein precipitation process. Bioresour. Technol. 2016;218:31-7.
- Hapach LA, Vanderburgh JA, Miller JP, Reinhart-King CA. Manipulation of in vitro collagen matrix architecture for scaffolds of improved physiological relevance. Physical Biology. 2015;12(6):061002. DOI: [10.1088/1478-3975/12/6/061002](https://doi.org/10.1088/1478-3975/12/6/061002).
- Pantus AV, Rozhko MM, Paliychuk VI, Kovalchuk NY, Melnyk NS. Microstructure of biopolymer micro-fibrous scaffold and its influence on the ability to retain medicines and tissue regeneration. Georgian medical news. 2023;3(336):37-44.
- Crisci A, Lombardi D, Serra E, Lombardi G, Cardillo F, Crisci M. Standardized protocol proposed for clinical use of L-PRF and the use of L-PRF Wound Box®. J Unexplored Med Data. 2017;2:77-87. DOI: [10.20517/2572-8180.2017.17](https://doi.org/10.20517/2572-8180.2017.17).
- Kubesch A, Barbeck M, Al-Maawi S, Orlowska A, Booms P, Sader R, et al. A low-speed centrifugation concept leads to cell accumulation and vascularization of solid platelet-rich fibrin: An experimental study in vivo. Platelets. 2019;30(3):329-340. DOI: [10.1080/09537104.2018.1445835](https://doi.org/10.1080/09537104.2018.1445835).
- Lee HM, Shen EC, Shen JT, Fu E, Chiu HC, Hsia YJ. Tensile strength, growth factor content and proliferation activities for two platelet concentrates of platelet-rich fibrin and concentrated growth factor. J. Dent. Sci. 2020;15(2):141-146. DOI: [10.1016/j.jds.2020.03.011](https://doi.org/10.1016/j.jds.2020.03.011).
- Li W, Sigley J, Pieters M, Helms C, Nagaswami C, Weisel JW, et al. Fibrin Fiber Stiffness Is Strongly Affected by Fiber Diameter, but Not by Fibrinogen Glycation. Biophys. J. 2016;110(6):1400-1410. DOI: [10.1016/j.bpj.2016.02.021](https://doi.org/10.1016/j.bpj.2016.02.021).
- McLellan J, Plevin S. Temporal release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) in the horse: a comparative in vitro analysis. International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine. 2014;12(1):48-57.
- Caymaz G, Uyanik O. Comparison of the effect of advanced platelet-rich fibrin and leukocyte- and platelet-rich fibrin on outcomes after removal of impacted mandibular third molar: A randomized split-mouth study. Niger. J. Clin. Pract. 2019;22(4):546-552. DOI: [10.4103/njcp.njcp_473_18](https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_473_18).
- Canellas JVDs, Medeiros PJD, Figueredo CMDS, Fischer RG, Ritto FG. Platelet-rich fibrin in oral surgical procedures: A systematic review and meta-analysis. Int. J. Oral Maxillofac. Surg. 2019;48(3):395-414. DOI: [10.1016/j.ijom.2018.07.007](https://doi.org/10.1016/j.ijom.2018.07.007).
- Caruana A, Savina D, Macedo JP, Soares SC. From Platelet-Rich Plasma to Advanced Platelet-Rich Fibrin: Biological Achievements and Clinical Advances in Modern Surgery. Eur. J. Dent. 2019;13(2):280-286. DOI: [10.1055/s-0039-1696585](https://doi.org/10.1055/s-0039-1696585).
- Crisci A, Manfredi S, Crisci M. Fibrinrich in Leukocyte- Platelets (L-PRF) and Injectable Fibrin Rich Platelets (I-PRF), two opportunity in regenerative surgery: Review of the sciences and literature. IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS). 2019;18:66-79.
- Choukroun J, Ghanati S. Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: The first introduction to the low speed centrifugation concept. Eur. J. Trauma Emerg. Surg. 2018;44(1):87-95. DOI: [10.1007/s00068-017-0767-9](https://doi.org/10.1007/s00068-017-0767-9).
- Siawasch SAM, Andrade C, Castro AB, Teughels W, Temmerman A, Quirynen M. Impact of local and systemic antimicrobials on leukocyte- and platelet rich fibrin: an in vitro study. Scientific Reports. 2022;12(1):2710. DOI: [10.1038/s41598-022-06473-4](https://doi.org/10.1038/s41598-022-06473-4).

21. Crisci A, Barillaro MC, Lepore G, Cardillo F. L-PRF Membrane (FibrinRich in Platelets and Leukocytes) and Its Derivatives (A-PRF, i-PRF) are Help ful as a Basis of Stem Cells in Regenerative Injury Treatment: Trial Work on the Horse. *International Blood Research & Reviews*. 2019;10(2):1-14.
22. Crisci A, Benincasa G, Crisci M, Crisci F. Leukocyte Platelet-Rich Fibrin (L-PRF), a new biomembrane useful in tissue repair: basic science and literature review. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2018;8(5):3635-43.
23. Kim BJ, Kwon TK, Baek HS, Hwang DS, Kim CH, Chung IK, et al. A comparative study of the effectiveness of sinus bone grafting with recombinant human bone morphogenetic protein 2-coated tricalcium phosphate and platelet-rich fibrin-mixed tricalcium phosphate in rabbits. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012;113(5):583-92. DOI: [10.1016/j.tripleo.2011.04.029](https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2011.04.029).
24. De Almeida NCPM, Dos Santos NBM, Completo AMG, De Oliveira FGV. Tensile strength assay comparing the resistance between two different autologous platelet concentrates (leucocyte-platelet rich fibrin versus advanced- platelet-rich fibrin): A pilot study. *Int. J. Implant Dent*. 2021;7(1):1. DOI: [10.1186/s40729-020-00284-w](https://doi.org/10.1186/s40729-020-00284-w).
25. El Bagdadi K, Kubesch A, Yu X, Al-Maawi S, Orłowska A, Dias A, et al. Reduction of relative centrifugal forces increases growth factor release within solid platelet- rich fibrin (PRF)-based matrices: a proof of concept of LSCC (low speed centrifugation concept). *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*. 2019;45(3):467-79.
26. Polak D, Clemer-Shamai N, Shapira L. Incorporating antibiotics into platelet-rich fibrin: a novel antibiotics slow-release biological device. *J Clin Periodontol*. 2019;46:241-247. DOI: [10.1111/jcpe.13063](https://doi.org/10.1111/jcpe.13063).
27. Wang S, Li Y, Li S, Yang J, Tang R, Li X, et al. Platelet-rich plasma loaded with antibiotics as an affiliated treatment for infected bone defect by combining wound healing property and antibacterial activity. *Platelets*. 2021;32(4):479-491. DOI: [10.1080/09537104.2020.1759792](https://doi.org/10.1080/09537104.2020.1759792).
28. Whitman WB, DeVos P, Dedysh S. *Bergey's manual of systematics of Archaea and Bacteria*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons; 2015.
29. Salam MA, Al-Amin MY, Pawar JS, Akhter N, Lucy IB. Conventional methods and future trends in antimicrobial susceptibility testing. *Saudi J Biol Sci*. 2023;30(3):103582. DOI: [10.1016/j.sjbs.2023.103582](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103582).
30. Belanger CR, Hancock REW. Testing physiologically relevant conditions in minimal inhibitory concentration assays. *Nat Protoc*. 2021;16(8):3761-3774. DOI: [10.1038/s41596-021-00572-8](https://doi.org/10.1038/s41596-021-00572-8).

КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ДОЦІЛЬНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ КОМБІНОВАНОГО ФІБРИНО-КІСТКОВОГО СКАФФОЛДУ З ВИРАЖЕННЯМ ЛОКАЛЬНИМ ПРОТИМІКРОБНИМ ЕФЕКТОМ

Євчук Ю. І., Пантус А. В.

Резюме. На сьогоднішній час існує проблема відновлення повноцінної структури кісткової тканини, що пов'язано з несвоєчасною деградацією грануляту та розвитку гіперостозу кісткової тканини або формування сполучної тканини навколо імплантованих гранул.

Метою дослідження стало визначення ефективності відновлення кісткових дефектів щелеп ало-аутологічним матеріалом отриманим шляхом одномоментного центрифугування гранул демінералізованого кістково-пластичного матеріалу і венозної крові пацієнта.

Для клінічних досліджень були відібрані 90 пацієнтів віком від 20 до 40 років з радикальними кістами щелеп. Усі пацієнти були розділені на I, II та III групи, яким проводили операцію цистектомії та кісткову пластику за стандартною методикою з використанням демінералізованого CenoBone®. Проте в I групі використовували скаффолд, який готували за розробленим нами протоколом. Додатково було проведено експериментальне мікробіологічне дослідження.

Результати проведеного експериментального мікробіологічного дослідження свідчили про більш виражений кумулятивний ефект у лінкоміцину на малих концентраціях, про що свідчили більш високі показники, як у відтиснутій фракції плазми 18,75 мг/мл, так і в фібриновому матриксу 9,4 мг/мл.

Результати наведених післяопераційних клінічних та рентгенологічних досліджень підтверджують ефективність розробленої методики. Про це свідчили високий відсоток 83,3% пацієнтів I групи з повним відновленням кісткового дефекту організованою структурою кісткової тканини з вираженням трабекулярним малюнком, що корелювало із показниками щільності кісткової тканини від 575,45±20,55 до 636,90±16,64 HU, що в даній групі пацієнтів відповідало інтактній кістці. Натомість, у II та III групах тільки у 16 (53,3%) та відповідно у 13 (43,3%) відмічалось повноцінне повне відновлення кісткової тканини. У решти пацієнтів кісткова тканина або взагалі не утворювалась, або відновлювалась частково, що обумовлено більш швидкою регенерацією в зоні контакту кістка-матеріал на відміну від центру гранулярного каркасу, де проростання капілярної сітки може відбуватись на більш пізніх термінах.

Проведений клінічний та рентгенологічний аналіз показав ефективність розробленої нами методики, на що вказували позитивні результати у вигляді повного відновлення кісткової тканини у 83,3% пацієнтів I групи та тільки у 53,3% пацієнтів II групи та 43,3% пацієнтів у III групі.

Ключові слова: кісткова тканина, регенерація кісткової тканини, кістково-пластичний матеріал, кісткова пластика, радикальна кіста, мікробіологічне дослідження, протимікробний ефект.

CLINICAL AND EXPERIMENTAL RATIONALE FOR THE FEASIBILITY OF USING A COMBINED FIBRIN-BONE SCAFFOLD WITH A PRONOUNCED LOCAL ANTIMICROBIAL EFFECT

Yevchuk Yu. I., Pantus A. V.

Abstract. Today there is a problem with the restoration of the bone tissue full structure, associated with untimely degradation of granulate and the development of bone hyperostosis or the formation of connective tissue around the implanted granules.

The aim of the present study was to determine the efficacy of the restoration of jaw bone defects by utilising allo-auto of the jaw bone defects restoration using allo-autologous material, which was obtained through the simultaneous centrifugation of granules of demineralised bone-plastic material and the patient's venous blood.

The clinical studies involved a sample of 90 patients, ranging in age from 20 to 40 years, who were diagnosed with radicular cysts of the jaws. All patients were divided into groups I, II and III; they were performed cystectomy and bone grafting using the standard technique with the demineralised CenoBone®. However, in group I, a scaffold

was prepared according to the protocol outlined in this study. An experimental microbiological study was also performed.

The experimental microbiological study yielded results that demonstrated a more pronounced cumulative effect of lincomycin at low concentrations, as evidenced by higher levels in both the pressed plasma fraction (18.75 mg/ml) and the fibrin matrix (9.4 mg/ml).

The results of the postoperative clinical and radiological studies confirm the effectiveness of the developed technique. This was evidenced by the high percentage (83.3%) of patients in group I with complete restoration of the bone defect by an organised bone tissue structure with a pronounced trabecular pattern, which correlated with bone tissue density values ranging from 575.45 ± 20.55 to 636.90 ± 16.64 HU, which in this group of patients corresponded to the intact bone. Conversely, in groups II and III, only 16 (53.3%) and 13 (43.3%) patients, respectively, exhibited complete restoration of bone tissue. In the remaining patients, bone tissue either failed to form at all or was partially restored, which is due to faster regeneration in the bone-material contact zone, in contrast to the centre of the granular framework, where capillary network growth may occur at a later stage.

The clinical and radiological analysis performed demonstrated the efficacy of the method we have developed, as indicated by the positive results obtained in the form of complete bone tissue restoration in 83.3% of patients in group I and only in 53.3% of patients in group II and 43.3% of patients in group III.

Key words: bone tissue, bone tissue regeneration, bone-plastic material, bone plastic surgery, radicular cyst, microbiological study, antimicrobial effect.

ORCID and contributionship / ORCID автора та його внесок до статті:

Yevchuk Yu. I.: <https://orcid.org/0009-0007-4741-7099>^{BCD}

Pantus A. V.: <https://orcid.org/0000-0002-5245-8836>^{AEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Yevchuk Yuriy Ivanovych / Євчук Юрій Іванович

Ivano-Frankivsk National Medical University / Івано-Франківський національний медичний університет

Ukraine, 76000, Ivano-Frankivsk, 2 Halytska str. / Адреса: Україна, 76000, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька 2

Tel.: +380509841820 / Тел.: +380509841820

E-mail: yraevchyk77@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статистичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 07.04.2025 / Стаття надійшла 07.04.2025 року
Accepted 15.08.2025 / Стаття прийнята до друку 15.08.2025 року

DOI 10.29254/2077-4214-2025-3-178-540-546

UDC 616.314-002-053.2:159.942.5

Kaskova L. F., Ulasevych L. P., Amosova L. I., Pavlenkova O. S.,
Khmil O. V., Yanko N. V., Sadovski M. O., Bielikova D. Ye.

DENTAL ANXIETY AS A RISK FACTOR FOR THE DEVELOPMENT OF DENTAL CARIES IN CHILDREN OF DIFFERENT AGES

Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine)

l.ulasevych@pdmu.edu.ua

Despite the active development of caries prevention methods, the level of tooth decay in children remains high, and dentophobia is a significant barrier to timely treatment. The aim of the study was to establish the relationship between the level of dental anxiety in children of different age groups and the prevalence of caries, as well as to determine the role of parental anxiety in shaping the child's behaviour during dental appointments.

The study was conducted at the Department of Pediatric Therapeutic Dentistry, where 90 somatically healthy children were examined: 40 children aged 5–6 years and 50 children aged 12 years. The level of dental anxiety was determined using the Korach scale (DAS), while oral hygiene was assessed using the Fedorov-Volodkina index. The intensity of caries was evaluated according to the dmft/DMFT indices, in accordance with the Leus method.

The results showed that preschool children demonstrate significantly higher anxiety levels than adolescents, with 70% of children aged 5–6 years old exhibiting pronounced dentophobia. Increased anxiety levels correlated with more severe caries and poorer oral hygiene indicators. A statistically significant positive correlation was found between the level of anxiety in children and their parents, which emphasises the importance of the family factor.

Thus, dental anxiety in children can be considered a risk factor for the development of caries, which necessitates early psychoprophylaxis and an individualised approach as part of a comprehensive prevention programme.

Key words: dental anxiety, dentophobia, dental caries, children, oral hygiene.