

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця

на правах рукопису

ЛАЗАРЄВА КСЕНІЯ АНАТОЛІВНА

УДК 616.314.17-002-085:615.24

ДИСЕРТАЦІЯ

**ВИЗНАЧЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ КОМПЛЕКСУ МИКРОРНК ТА РОЗРОБКА
МЕТОДУ ТАРГЕТНОГО ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОГО ПАРОДОНТИТУ**

221 – Стоматологія

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ К.А. Лазарєва

Науковий керівник: Скрипников Петро Миколайович,

Заслужений лікар України,

доктор медичних наук, професор

АНОТАЦІЯ

Лазарева К.А. Визначення експресії комплексу мікроРНК та розробка методу таргетного лікування хронічного пародонтиту. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 221 – Стоматологія (22 – Охорона здоров'я). – Полтавський державний медичний університет, Полтава, 2026.

Дисертація вирішує актуальне питання розробки додаткової терапії у вигляді курсів системного прийому епігалокатехін-галату/екстракту зеленого чаю, або куркуміну, направленої на врегулювання комплексу міРНК при пародонтиті.

Пародонтит (ПД) – поширене мультифакторне запальне захворювання, яке вражає опорні тканини зубів, що призводить до втрати зубів та значно впливає на якість життя пацієнтів. Всі традиційні методи лікування мають певні обмеження. МікроРНК – це короткі некодуючі РНК, які посттранскрипційно регулюють експресію генів і відіграють ключову роль у контролі запалення, ремоделювання кістки та регенерації тканин пародонта, що робить їх перспективними біомаркерами й терапевтичними мішенями в стоматології.

Останнім часом концепція модуляції метаболізму в лікуванні хронічних захворювань, включаючи ПД, за допомогою нутрицевтиків, стала більш перспективною. Низка поліфенолів реалізують частину своїх ефектів через регуляцію мікроРНК-залежних шляхів, що впливають на NF- κ B та RANKL/OPG-сигналінг. Також їх ефекти реалізуються через цитокінові осі, але, більшість даних отримано з моделей на тваринах та клітинних культур.

Тому питання оптимізації терапії ПД на системному рівні, направленої на врегулювання локальних рівнів мікроРНК та цитокінів потребує більш детального вивчення.

Метою роботи була оптимізація лікування пародонтиту, шляхом обґрунтування та розробки методів, спрямованих на корекцію порушення комплексної експресії міРНК.

В цій роботі досліджено EGCg та куркумін (у вигляді препаратів, схвалених фармаконаглядом і дозволених в Україні), та панель з 5 мікроРНК і валідовані цитокіни: прозапальні IL-1 β , IL-6, антизапальні: IL-10, TGF- β , разом з клінічними показниками щоб посилити трансляційну значущість клінічних результатів.

Згідно завдань, було відібрано пацієнтів з ПД 2-4 стадії, помірної швидкості прогресування згідно класифікації 2017 року, які підписали інформовану згоду, і яких було рандомізовано за віком, статтю, палінням, наявністю системних хвороб та ступенем ПД на 3 групи. У дослідженні взяли участь 42 особи, по 14 осіб у кожній групі: дві основні групи – перша та друга (з додатковим EGCg чи куркуміном) і одна – контрольна (в якій проводили тільки обов'язкове періодонтальне лікування). Пацієнтам було проведено повторні клінічні вимірювання у трьох часових точках та визначення міРНК. Під час T1 і T3 - визначення цитокінів. Серед клінічних методів дослідження, окрім сурогатних, використано анкетування Oral Health Impact Profile-14 (OHIP-14), як валідований інструмент оцінки клінічно значущого для пацієнта ефекта. Визначення міРНК проводили методом кількісної зворотнотранскриптазної полімеразної ланцюгової реакції. Цитокіни визначали імуноферментним методом. Статобробку проведено за допомогою програми Призма.

Першим кроком лікування для всіх пацієнтів був інструктаж з домашньої гігієни, інформування про пародонтит. Пацієнтам контрольної групи проводили лише консервативне періодонтальне лікування (за виключенням біопсії). Періодонтальне лікування проводили із застосуванням однакових заходів та засобів під час T1, а також, за показаннями – під час T2 і T3. Основним заходом було професійне механічне зняття зубних відкладень (ЗЗВ), яке передавало «full-mouth»-підхід. Пацієнти першої та другої груп одночасно з початком періодонтального лікування, розпочинали прийом EGCg чи куркуміну.

Первинними критеріями (outcomes) дослідження були зміни періодонтальної глибини (кишень) на 3й та 6й місяці, а також, відповідно, пропорцій порогових значень глибин. Співвідношення порогових значень повніше враховує всі вимірювання. (Їх розраховували з періодонтограми.) Всі інші були вторинними.

Результати дозволили встановити, що розподіли значень експресії міРНК при ПД мали правобічну асиметрію, це означало що відповідними статистичними методами будуть непараметричні. Після рандомізації, за кожною міРНК групи були врівноважені.

У роботі не планували порівняння експресії міРНК із періодонтально здоровими пацієнтами, але чимало досліджень вже встановили що при ПД вони переважно підвищені.

При ПД було встановлено ряд кореляцій між мікроРНК. Що відображає їх спільну участь у регуляції запальної відповіді й ремоделюванні тканин. ІЛ-1 β корелював з ІЛ-10, і з TGF- β , відображаючи взаємопов'язану активацію прозапальних та компенсаторних регуляторних механізмів. Кореляція між глибокими ділянками та експресією міРНК 29b-3p може пояснюватись залученістю цієї до регуляції сигналізації при колагеноутворенні, проліферації, апоптозі, як досліджено раніше. Крім того, встановлено клініко-цитокінові паралелі: пропорція PPD $\geq$ 6 мм та BoP корелювали з рівнями ІЛ-10 і TGF- β .

Перевірка врівноваженості за пропорціями порогових значень, показала неточність, тому що рандомізацію проводили за показником поширеність (prevalence: принаймні одна ділянка періодонтально глибини (PD) $\geq$ 4 мм, або $\geq$ 6 мм та/або клінічна втрата прикріплення (CAL) $\geq$ 3 мм або $\geq$ 5 мм відносила ПД до середнього чи тяжкого ступеня). Коли ж дані з усіх ділянок були отримані, на одного учасника, припадала різна кількість відповідних глибин. Ці розбіжності були враховані для міжгрупової оцінки траєкторії змін (у динаміці). Перша група показала додаткові клінічні переваги: по зменшенню пропорції помірних глибин 4-5 мм під час T2; та по збільшенню % закритих кишень (але і друга також мала аналогічний менш виразний ефект).

Друга група показала додаткові клінічні переваги: по зниженню індексу кровоточивості при пробі (BoP) (але і у першій спостерігалось менш виразне зниження), та покращення співвідношення порогових значень CAL $\geq$ 3/ $\geq$ 4 мм під час T3.

В обох групах проявився ефект по зменшенню глибоких ділянок.

Зміни періодонтальних параметрів супроводжувались достовірним покращенням функціональних та психосоціальних аспектів орального здоров'я, що розширює уявлення про клінічну ефективність застосованих лікувальних підходів, згідно анкетування ОНІР-14, з приблизно однаковим розміром і тривалістю 3 міс.

При цих ефектах у першій та другій групах підвищувався індекс зубного нальоту.

Цитокіни достовірно змінювали свій рівень у першій та другій, але не в контрольній групі. На кінець спостереження, рівні ІЛ-6, ІЛ-10 і TGF- β мали достовірні різниці при порівнянні між групами.

У першій групі разом з клінічними перевагами були достовірно підвищені 3 мікроРНК, також знизились TGF- β та підвищились ІЛ-10. Підвищені мікроРНК, зокрема 155-5р та 138-5р, відомі як негативні регулятори остеогенної диференціації, можуть відображати переважання запального сигналіngu над регенеративними механізмами. Цитокінові взаємозв'язки перебудовувались: TGF- β асоціювався з параметрами структурного ушкодження ($CAL \geq 3/\geq 4$ мм), тоді як ІЛ-6 корелював із показниками залишкової запальної активності (BoP), що може свідчити про модулюючий вплив терапії на баланс між запаленням і репарацією.

У другій групі разом з клінічними перевагами достовірно знизились рівні чотирьох мікроРНК, а також на 6 міс. miR-27a-3р все ще була відносно зниженою, що відповідає тривалості ефекту. Цитокінова перебудова на ТЗ могла відображати перемикання на імунорегуляторний режим.

Попри підвищення індексу нальоту (в першій і в другій групах), інші клінічні показники, зокрема BoP залишались кращими. Це свідчить, що терапія вплинула на реактивність тканин через епігенетичні механізми. Тобто ясна стали менш гіперреактивними до біоплівки.

Узагальнено отримані результати свідчать, що куркумін може індукувати зниження прозапальних мікроРНК, пригнічувати NF- κ B–ІЛ-6-залежну вісь запалення та водночас активувати регуляторну ІЛ-10/TGF- β -асоційовану відповідь. Стійке зниження miR-27a-3р може відображати стабілізацію ремоделювання та сприяти покращенню CAL.

За клінічним покращенням, молекулярні зміни, які залучають численні мережі, та мали протилежні зміни міРНК під впливом EGCg й куркуміну, відповідали потенційній імуномодуляції, тобто балансуванню запального сигналінгу і регенеративних механізмів.

міРНК мають важливу роль у складних мережах, пов'язаних з імунними відповідями, каскадами запалення, фагоцитозом, апоптозом, ангіогенезом, регенерацією, антиоксидантною системою в різних клітинах, на молекулярному рівні, що відкриває як різні захворювання можуть мати спільні механізми і точки перетину патогенезу.

Модуляція про- і анти- запальних каскадів і клінічні наслідки, встановлені в цьому дослідженні під впливом EGCg та куркуміну, є складовою концепції шляхів активації NF-κB при метаболічних порушеннях і системному запаленні.

Перша і друга групи відрізнялися за кількома міРНК від стандартного лікування. Це глобально означає що обрані препарати впливають на експресію міРНК, (на клініку), і цитокіни. Додаткова терапія не лише знижує запальну активність, але й модифікує архітектуру молекулярної регуляції, що є ознакою глибшого, а не симптоматичного терапевтичного ефекту.

В цьому клінічному рандомізованому парному 6-місячному проспективному, відкритому, рандомізованому контрольованому клінічному дослідженні показано, що за рахунок додаткових курсів EGCg або куркуміну можна впливати на локальні, у тканинах ясен, рівні експресії міРНК, що надає клінічні переваги при включенні у комплекс лікування пародонтиту. Зокрема показані клінічні переваги додаткових курсів EGCg та куркуміну у терапії ПД 2-3/4 ступеня із помірною швидкістю прогресування на широкому контингенті пацієнтів (з невеликим переважанням жіночої статі, 66/34% відповідно) віком від 21 до 74 (середній вік 48 років). Також показано, що додаткові курси EGCg або куркуміну впливають на локальні, у тканинах ясен, рівні експресії міРНК, та рівні про- і антизапальних цитокінів, що може бути механізмом додаткового клінічного покращення.

Ключові слова: епігалокатехінгалат, клінічне дослідження, куркумін, мікроРНК, пародонтит, професійне механічне зняття зубних відкладень, сурогатні

періодонтальні показники, тканини ясен, цитокіни, профіль впливу здоров'я порожнини рота.

ABSTRACT

Lazarieva K. A. **Determination of microRNA complex expression and development of a targeted treatment method for chronic periodontitis.** – A qualification scientific work submitted as a manuscript.

A dissertation submitted for the degree of Doctor of Philosophy in Specialty 221 – Dentistry (Field of Knowledge 22 – Health Care). – Poltava State Medical University, Poltava, 2026.

The dissertation addresses the relevant issue of developing adjunctive therapy in the form of courses of systemic administration of epigallocatechin gallate/green tea extract or curcumin aimed at regulating the microRNA complex in periodontitis.

Chronic periodontitis (CP) is a common multifactorial inflammatory disease affecting the supporting tissues of the teeth, leading to tooth loss and significantly impairing patients' quality of life. All conventional treatment approaches have certain limitations.

MicroRNAs are short non-coding RNAs that post-transcriptionally regulate gene expression and play a key role in controlling inflammation, bone remodeling, and periodontal tissue regeneration, which makes them promising biomarkers and therapeutic targets in dentistry.

Recently, the concept of metabolic modulation in the treatment of chronic diseases, including CP, using nutraceuticals has gained increasing attention. A number of polyphenols exert part of their effects through the regulation of microRNA-dependent pathways affecting NF- κ B and RANKL/OPG signaling. Their effects are also mediated through cytokine axes; however, most available evidence has been obtained from animal models and cell culture studies.

Therefore, the optimization of systemic therapy for periodontitis aimed at regulating local levels of microRNAs and cytokines requires further detailed investigation.

The aim of the study was to optimize periodontitis therapy through the development of therapeutic approaches targeting alterations in microRNA expression profiles.

In this study, epigallocatechin gallate (EGCG) and curcumin (in the form of pharmacovigilance-approved products permitted for use in Ukraine) were investigated, along with a panel of five microRNAs and validated cytokines, including the pro-inflammatory IL-1 β and IL-6, and the anti-inflammatory IL-10 and TGF- β . These molecular markers were assessed together with clinical parameters to enhance the translational relevance of the clinical findings.

According to the study objectives, patients with stage II–IV periodontitis and a moderate rate of progression, classified according to the 2017 classification, who provided informed consent were enrolled and randomized by age, sex, smoking status, presence of systemic diseases, and periodontitis severity into three groups. The study included 42 participants, with 14 individuals in each group: two main groups (the first and the second, receiving adjunctive EGCG or curcumin) and one control group (receiving only mandatory periodontal treatment).

Repeated clinical measurements were performed at three time points, along with the assessment of microRNA expression. Cytokine levels were determined at T1 and T3. In addition to surrogate clinical parameters, patient-reported outcomes were evaluated using the Oral Health Impact Profile-14 (OHIP-14) questionnaire, a validated instrument for assessing clinically meaningful patient-related outcomes. MicroRNA expression was determined by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR), while cytokine levels were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Statistical analysis was performed using Prism software.

The first step of treatment for all patients consisted of oral hygiene instruction and education about periodontitis. Patients in the control group received only conservative periodontal treatment (with the exception of biopsy). Periodontal therapy was performed

using identical procedures and instruments at T1 and, when indicated, also at T2 and T3. The main intervention was professional mechanical plaque removal (PMPR), performed using a full-mouth approach. Patients in the first and second groups initiated EGCG or curcumin administration simultaneously with the start of periodontal therapy.

The primary outcomes of the study were changes in periodontal pocket depth at the third and sixth months, as well as the corresponding proportions of threshold pocket depth values. The analysis of threshold value proportions allowed a more comprehensive consideration of all measurements, which were calculated from the periodontal chart. All other parameters were considered secondary outcomes.

The results demonstrated that the distributions of microRNA expression levels in periodontitis exhibited right-skewness, indicating the need for non-parametric statistical methods. After randomization, the study groups were balanced with respect to each analyzed microRNA.

The study did not include a comparison of microRNA expression with periodontally healthy subjects; however, numerous studies have already shown that microRNAs are generally upregulated in periodontitis.

Several correlations between microRNAs were observed in CP, reflecting their joint involvement in regulating the inflammatory response and tissue remodeling. IL-1 β correlated with IL-10 and TGF- β , indicating the interconnected activation of pro-inflammatory and compensatory regulatory mechanisms. The correlation between deep periodontal sites and the expression of miR-29b-3p may be explained by its involvement in signaling pathways related to collagen formation, cell proliferation, and apoptosis, as previously reported. Furthermore, clinical–cytokine parallels were identified: the proportion of PPD $\geq$ 6 mm and index of bleeding on probing (BoP) correlated with IL-10 and TGF- β levels.

Checking the balance of threshold value proportions revealed some inaccuracies, as randomization was based on prevalence (i.e., at least one site with periodontal depth (PD) $\geq$ 4 mm or $\geq$ 6 mm and/or CAL $\geq$ 3 mm or $\geq$ 5 mm, classifying periodontitis as moderate or severe). Once data from all sites were collected, each participant had a variable number

of corresponding pocket depths. These discrepancies were accounted for in the intergroup assessment of change trajectories over time.

The first group demonstrated additional clinical benefits, including a reduction in the proportion of moderate pocket depths (4–5 mm) at T2 and an increase in the percentage of closed pockets (although the second group also showed a similar, but less pronounced, effect).

The second group showed additional clinical benefits in terms of reduced BoP; although a less pronounced decrease was also observed in the first group, and improvement in the proportion of sites with $CAL \geq 3/\geq 4$ mm at T3.

Both intervention groups exhibited a reduction in deep PD.

Changes in periodontal parameters were accompanied by significant improvements in functional and psychosocial aspects of oral health, as assessed by the OHIP-14 questionnaire, indicating the clinical effectiveness of the applied therapeutic approaches, with a similar magnitude and duration of effect over three months.

Despite these improvements, plaque index increased in both the first and second groups.

Cytokine levels changed significantly in the first and second groups but not in the control group. By the end of the observation period, IL-6, IL-10, and TGF- β levels showed significant intergroup differences.

In the first group, alongside the observed clinical benefits, three microRNAs were significantly upregulated, TGF- β levels decreased, and IL-10 levels increased. The upregulated microRNAs, particularly miR-155-5p and miR-138-5p, are known negative regulators of osteogenic differentiation and may reflect a predominance of inflammatory signaling over regenerative mechanisms. Cytokine interactions were reorganized: TGF- β was associated with structural damage parameters ($CAL \geq 3/\geq 4$ mm), whereas IL-6 correlated with residual inflammatory activity (bleeding on probing, BoP), suggesting a modulatory effect of the therapy on the balance between inflammation and tissue repair.

In the second group, in addition to clinical benefits, levels of four microRNAs were significantly reduced. At six months, miR-27a-3p remained relatively decreased,

consistent with the duration of the therapeutic effect. Cytokine reorganization at T3 may reflect a shift toward an immunoregulatory profile.

Despite an increase in plaque index in both the first and second groups, other clinical parameters, particularly BoP, remained improved. This suggests that the therapy influenced tissue reactivity through epigenetic mechanisms, rendering the gingiva less hyperresponsive to biofilm.

Overall, the results indicate that curcumin may induce a reduction in pro-inflammatory microRNAs, suppress the NF- κ B–IL-6–dependent inflammatory axis, and simultaneously activate a regulatory IL-10/TGF- β –associated response. The sustained decrease in miR-27a-3p may reflect stabilization of tissue remodeling and contribute to improvements in CAL.

At the clinical level, these improvements were accompanied by molecular changes involving multiple regulatory networks. The opposing microRNA alterations observed under EGCG and curcumin treatment correspond to potential immunomodulation, reflecting a balance between inflammatory signaling and regenerative mechanisms.

MicroRNAs play a crucial role in complex networks involved in immune responses, inflammatory cascades, phagocytosis, apoptosis, angiogenesis, tissue regeneration, and the antioxidant system across various cell types at the molecular level. This highlights how different diseases may share common mechanisms and intersecting pathogenic pathways.

The modulation of pro- and anti-inflammatory cascades and the associated clinical outcomes observed in this study under EGCG and curcumin treatment are part of the broader concept of NF- κ B pathway activation in metabolic disturbances and systemic inflammation.

The first and second groups differed from standard treatment in the expression of several microRNAs. This indicates that the selected compounds exert an effect on microRNA expression (with clinical relevance) and cytokine levels. Adjunctive therapy not only reduces inflammatory activity but also modifies the architecture of molecular regulation, reflecting a deeper, rather than merely symptomatic, therapeutic effect.

This 6-month, prospective, open-label, paired, randomized controlled clinical trial demonstrates that adjunctive courses of EGCG or curcumin can modulate local microRNA expression levels in gingival tissues, providing clinical benefits when incorporated into comprehensive periodontitis treatment. Specifically, clinical advantages of adjunctive EGCG and curcumin courses were observed in the therapy of stage II–III/IV periodontitis with moderate progression across a broad patient cohort (slightly female-predominant, 66/34%) aged 21–74 years (mean age 48).

Furthermore, adjunctive EGCG or curcumin was shown to influence local microRNA expression in gingival tissues as well as pro- and anti-inflammatory cytokine levels, which may underlie the observed additional clinical improvements.

Keywords: epigallocatechin gallate, clinical trial, curcumin, microRNA, periodontitis, professional mechanical plaque removal (PMPR), surrogate periodontal parameters, gingival tissues, cytokines, oral health impact profile.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРАЦІЇ

Наукові праці, в яких висвітлено основні наукові результати дисертації

1. Lazarieva, K., Skrypnykov, P., Shnaider, S., Udaltsova, K., Shynkevych, V., & Kaidashev, I. Detection of miRNA in chronic periodontitis clinical studies: a systematic review. *The Medical and Ecological Problems*. 2023; 27(5-6): 5-12. DOI <https://doi.org/10.31718/mer.2023.27.5-6.01>. *(Участь здобувача полягає у значному внеску у отримання, аналіз та інтерпретацію даних для роботи, підготовці манускрипту та критичному перегляді її на предмет важливого інтелектуального змісту. Співавтори: значний внесок у концепцію, дизайн, отримання й аналіз результатів, написання та ревізія роботи);*
2. Лазарева, К. А., Скрипников, П. М., Кайдашев, І. П., Удадьцова, К. О., & Шинкевич, В. І. Вибір методів діагностики при хронічному пародонтиті для клінічних досліджень: структурований огляд. *Клінічна Стоматологія*, 2024. № 3. С. 37–50. <https://doi.org/10.11603/2311-9624.2024.3.14977> *(Внесок автора:*

Здобувач здійснив значний внесок у отримання, обробку та інтерпретацію даних, підготовку манускрипту та його критичний аналіз з позицій наукової цінності. Внесок співавторів: Співавтори брали участь у розробці концепції та дизайну дослідження, отриманні та аналізі результатів, а також у підготовці та рецензуванні рукопису);

3. Lazarieva K, Skrypnykov P, Shynkevych V & Kaidashev I. Evaluation of a microRNA expression panel and clinical outcomes in periodontitis following adjunctive curcumin or epigallocatechin-3-gallate therapy. *Ukrainian Dental Almanac* 2025; (4):5-17. DOI 10.31718/2409-0255.4.2025.01 (Scopus) *(Внесок автора: Участь здобувача полягала у значному внеску в отримання, аналіз та інтерпретацію даних, підготовці манускрипту та критичному перегляді тексту на предмет важливого інтелектуального змісту. Внесок співавторів: Співавтори забезпечили значний внесок у концепцію та дизайн дослідження, отримання й аналіз результатів, а також підготовку та рецензування роботи).*

4. Lazarieva K., Skrypnykov P., Shynkevych V., Kolomiiets S., Kaidashev I. Cytokine changes following adjunctive administration of epigallocatechin-3-gallate or curcumin in periodontitis. *World of Medicine and Biology* 2026; 22(95): 98-102. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2026-1-95-98-102> (WoS) *(Внесок автора:Здобувач здійснив значний внесок у отримання, обробку та інтерпретацію даних, підготовку манускрипту та його критичний аналіз. Внесок співавторів: Співавтори брали участь у розробці концепції та дизайну дослідження, отриманні зразків, клінічних даних та аналізі результатів, а також у підготовці та рецензуванні рукопису).*

Апробація матеріалів дисертації

1. Лазарева К.А. Шинкевич В.І. Удальцова К.О., Скрипников П.М., Кайдашев І.П. Регуляція запалення при пародонтиті за участі мікроРНК. Усна доповідь на Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Питання алергії та імунітету в розвитку основних стоматологічних захворювань. Клінічні та

патогенетичні аспекти». 24-25 жовтня 2024 р. ПДМУ, Полтава. *(Участь здобувача полягає у значному внеску у розробку концепції та дизайну, а також отримання, аналіз та інтерпретацію даних для роботи, підготовці манускрипту та критичному перегляді на предмет важливого інтелектуального змісту. Співавтори: значний внесок у концепцію, дизайн, отримання й аналіз результатів, написання та ревізія роботи);*

2. Лазарєва К.А., Скрипников П.М., Шинкевич В.І., Кайдашев І.П. Визначення панелі мікроРНК тканин ясен, уражених пародонтитом, та їх зміни під впливом періодонтального лікування. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція* : матеріали VII науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю, м. Харків, 20 жовтня 2025 р. Х. : НФаУ, 2025, 258 с. -С.146-148. *(Участь здобувача полягає у значному внеску у отримання, аналіз та інтерпретацію даних для роботи, підготовці манускрипту та критичному перегляді на предмет важливого інтелектуального змісту. Співавтори: значний внесок у концепцію, дизайн, отримання й аналіз результатів, написання та ревізія роботи)*

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АПК – антиген презентуючі клітини

АР – атрибутивний ризик, англ. Attributable Risk (AR) — це різниця між частотою події (ризиком) у групі, що зазнала впливу фактора, і частотою тієї ж події у групі без впливу

АФК – активні форми кисню

БАД – біологічно активні добавки

ВАШ – візуальна аналогова шкала

ДІ – довірчий інтервал

ДК – дендритні клітини

ЗЗВ – зняття зубних відкладень

МікроРНК, міРНК (англ. microRNA, miRNA, miR) – клас коротких некодуючих молекул РНК

НПЗЗ – нестероїдні протизапальні засоби

нт – нуклеотиди

ПД – пародонтит, або хронічний періодонтит, періодонтит

РКД – рандомізоване клінічне дослідження

ТФР-β - трансформуючий фактор роста бета

ХГ - хлоргексидин

AUC – англ., Area Under the Curve, показник, який використовується для оцінки діагностичної або прогностичної здатності тесту/біомаркера

BACH2 – англ., BTB domain and CNC homolog 2, транскрипційний репресор родини BTB-basic leucine zipper (bZip)

BoP – англ., bleeding on probing, кровоточивість при пробі

CI – англ. confidence interval, конфіденційний/довірчий інтервал

CAL – англ., clinical attachment loss, втрата/рівень клінічного (періодонтального чи епітеліального) прикріплення

ceRNA – англ., competing endogenous RNA, конкуруюча ендегенна РНК

circRNA– англ., circular RNA, кільцева (циркулярна) РНК

DNMT – англ., ДНК-метилтрансферази

EGCG – англ. epigallocatechin-3-gallate, галлат епігаллокатехіну

GI – англ., gingival index developed by Loe and Silness in 1963, індекс гінгівіту

hPDL - клітини періодонтальної зв'язки людини

hPDLSC – англ., human Periodontal Ligament Stem Cell

IGF1 – англ., Insulin-like growth factor 1, подібний до інсуліну фактор росту 1

LNA-зонд – англ., locked nucleic acid, заблокована нуклеїнова кислота (йдеться про модифікований нуклеотид, у якому рибозне кільце «замкнене» додатковим містком, що підвищує стабільність і спорідненість до комплементарної послідовності)

lncRNAs – англ., long non-coding RNAs , довгі некодувальні РНК

LPS – англ., lipopolysaccharide, ліпополісахарид

MMP – англ., Matrix metalloproteinase, матриксна металопротеїназа

NF-κB Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, ядерний фактор κB (підсилювач легкого ланцюга каппа активованих В-клітин) (Головний регулятор запальної відповіді, імунітету та виживання клітин.)

NOVA1, англ., neuro-oncological ventral antigen 1, нейроонкологічний вентральний антиген 1

Nrf2 – англ., Nuclear factor erythroid 2–related factor 2, ядерний фактор, пов'язаний з еритроїдами 2 (фактор транскрипції Nrf2) (Основна функція: регуляція антиоксидантної відповіді клітини.)

OCN – англ., osteocalcin, остеокальцин

OCN – англ., osteocalcin, остеокальцин

OHIP – англ., oral health impact profile, анкета «Вплив стану порожнини рота на якість життя»

OHQRoL - англ., oral health-related quality of life, якість життя, пов'язана зі станом порожнини рота

Pg – Porphyromonas gingivalis

PI – англ., plaque index, індекс нальоту/зубної бляшки

PMPR – англ. professional mechanical plaque removal, професійне механічне видалення зубних відкладень

PPAR γ – англ., Peroxisome proliferator-activated receptor gamma, гамма-рецептор, активований проліфератором пероксисом

PPD – англ., periodontal probing depth, глибина періодонтальної проби, періодонтальна глибина

PSR - англ., periodontal screening and recording, періодонтальний скринінг та облік

PU.1 – англ., purine-rich box-1, багатий на пурини бокс 1 транскрипційний фактор

qRT-PCR – англ. reverse transcription quantitative PCR, кількісна зворотнотранскриптазна полімеразна ланцюгова реакція

RISC – англ., RNA-induced silencing complex, комплекс індукованого РНК заглушення (експресії генів)

RU – англ., relative units, відносні одиниці для вираження результатів qRT-PCR для рівнів експресії міРНК.

SD – англ. standard deviation, стандартне відхилення середнього

SE – англ. standard error, стандартна помилка середнього

SGK1 – англ., serum- and glucocorticoid-inducible kinase 1, сироватково- та глюкокортикоїдно-індукована кіназа 1

SMAD – англ., Sma- and Mad-related intracellular signal transducer proteins, внутрішньоклітинні сигнальні білки-медіатори TGF- β -залежного шляху передачі сигналу

SRP – англ., Scaling and Root Planing, скейлінг та поліровка/стругання коренів

TGF- β - англ., transforming growth factor beta

3MICT

АНОТАЦІЯ.....	2
СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРАЦІЇ.....	12
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	15
ЗМІСТ.....	18
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1. АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ: СУЧАСНА ДІАГНОСТИКА ТА ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОГО ПАРОДОНТИТУ.....	27
1. Сучасні дані про етіологію й патогенез хронічного пародонтиту.....	27
2. Роль мікроРНК в патогенезі пародонтиту і методи їх дослідження.....	30
3. Аналіз сучасного менеджменту пацієнтів з пародонтитом для з'ясування перспективних напрямків та тенденцій.....	44
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	59
2.1 Відбір пацієнтів. Критерії включення та виключення.....	59
2.2 Дизайн дослідження і протоколи лікування.....	72
2.3 Клінічний моніторинг пацієнта.....	75
2.3.1. Калібрування експертного лікаря-дослідника.....	75
2.3.2. Клінічні вимірювання.....	76
2.4 Відбір зразків ясен.....	76
2.5 Визначення експресії міРНК.....	77
2.6 Визначення експресії цитокінів.....	82
2.7 Первинні і вторинні кінцеві точки дослідження.....	82
2.8 Статистичний аналіз.....	83
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ. ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ПАРОДОНТИТ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ЕПІГАЛОКАТЕХІН ГАЛАТУ АБО КУРКУМІНУ.....	85

3.1 Вивчення експресії комплексів міРНК тканин пародонту та їх зв'язку з клінічними показниками при пародонтиті.....	85
3.1.1. Експресія комплексу міРНК при пародонтиті.....	85
3.1.2. Клінічні дані пацієнтів з пародонтитом.....	90
3.1.3. Зв'язки експресії комплексів міРНК тканин пародонту з клінічними показниками при пародонтиті.....	99
3.2. Вивчення експресії цитокінів ясен та їх зв'язку з експресією комплексів міРНК і клінічними показниками при пародонтиті.....	100
3.3. Зміни клінічних параметрів і молекулярних маркерів як оцінка ефективності стандартної періодонтальної терапії.....	102
3.3.1. Зміни клінічних параметрів як оцінка ефективності стандартної періодонтальної терапії.....	103
3.3.2. Зміни рівнів експресії міРНК у відповідь на стандартну періодонтальну терапію.....	111
3.3.3. Зміни рівнів експресії цитокінів ясен у відповідь на стандартну періодонтальну терапію.....	116
3.4 Зміни клінічних параметрів і молекулярних маркерів як оцінка ефективності прийому епігалокатехін галату додатково до стандартної періодонтальної терапії.....	11
8	
3.4.1. Зміни клінічних параметрів як оцінка ефективності додаткового прийому епігалокатехін галату.....	118
3.4.2. Зміни рівнів експресії міРНК у відповідь на додатковий прийом епігалокатехін галату.....	126
3.4.3. Зміни рівнів експресії цитокінів ясен у відповідь на додатковий прийом епігалокатехін галату	132
3.5 Зміни клінічних параметрів і молекулярних маркерів як оцінка ефективності додаткового прийому куркуміну до стандартної періодонтальної терапії.....	134
3.5.1. Зміни клінічних параметрів як оцінка ефективності додаткового прийому куркуміну.....	134

3.5.2. Зміни рівнів експресії міРНК у відповідь на додатковий прийом куркуміну	142
3.5.3. Зміни рівнів експресії цитокінів у відповідь на додатковий прийом куркуміну	148
3.6 Порівняння між групами дослідження клінічних параметрів і молекулярних маркерів	
після	
лікування	
пародонтиту.....	149
3.6.1. Порівняння клінічних даних між групами дослідження.....	149
3.6.2. Порівняння між групами дослідження експресії міРНК.....	169
3.6.3. Порівняння між групами дослідження експресії цитокінів у тканині ясен.....	173
3.6.4. Клініко-молекулярні кореляційні взаємозв'язки при розробленому таргетному лікуванні пародонтиту.....	175
РОЗДІЛ 4. ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	183
ВИСНОВКИ.....	218
ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ.....	221
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	222
ДОДАТКИ.....	266

ВСТУП

Актуальність теми. Пародонтит, або, згідно уточненої термінології, періодонтит (ПД), характеризується як хронічне запальне захворювання, яке пошкоджує опорні структури зубів в альвеолярній кістці. Він зумовлений взаємно підсиленою взаємодією між дисбіотичним мікробіомом та порушеним запаленням. Розвиток дисбіотичних бактеріальних спільнот разом із запальною реакцією господаря створює самопідтримуваний цикл зв'язків, які увічнюють пародонтит [1].

ПД є одним з найбільш поширених хронічних захворювань у світі [2].

Традиційні технологічні методи лікування ПД, включаючи обов'язкове зняття над- та під'ясенних зубних відкладень, фармакологічний системний і місцевий супровід професійного зняття зубних відкладень (ЗЗВ), а також хірургічні процедури, мають значні обмеження [3].

Запальна відповідь при ПД передбачає захисні та деструктивні компоненти. Епігенетичні варіації, включаючи мікроРНК (міРНК), можуть змінювати вроджені чи адаптивні імунні відповіді, викликаючи відмінності у клінічних проявах запалення та відповіді на лікування [4]. Такі системні фактори ризику як епігенетика важче піддаються менеджменту стоматологом, мають різноманітний спектр і становлять привабливі мішені впливу, особливо враховуючи довготривалий, прогресуючий і поєднаний із системними запальними захворюваннями та станами, перебіг ПД. Внаслідок розміру і здатності орієнтуватися на декілька регуляторних мереж пов'язаних груп генів, міРНК вважають ідеальними кандидатами у якості мішеней терапії. Серед потенційних препаратів, націлених на міРНК, – поліфеноли, які використовуються як харчові

добавки, відомі також під терміном нутрицевтики [5]. Про деякі з них повідомлено у контексті лікування гінгівіту і пародонтиту, і їх протизапальний, антиангіогенний, імуотропний та антиоксидантний ефекти [6-9]. Але, окрім клінічних показників, необхідні додаткові надійні показники локальної запальної деструкції такі як рівні цитокінів у тканині ясен уражених ПД. Зміни в експресії цитокінів можуть слугувати маркерами молекулярного запалення, оскільки вони відображають активацію відповідних сигнальних шляхів і клітинних популяцій у зоні ураження. Отже, актуальним питанням є перевірка таких поліфенолів як епігалокатехін галат (EGCg) та куркумін в умовах клінічного дослідження пародонтиту у поєднанні з сучасними клінічними критеріями, надійними показниками молекулярного запалення такими як цитокіни та можливою зміною експресії міРНК.

Зв'язок з науковими програмами.

Дисертаційна робота є фрагментом прикладної НДР Полтавського державного медичного університету за угодою із МОЗ України «Внесок експресії комплексу мікроРНК в патогенез хронічного періодонтиту, для розробки і оцінки методів таргетного лікування», ДР№ 0122U201709.

Мета і завдання дослідження

Оптимізація лікування пародонтиту, шляхом обґрунтування та розробки методів, спрямованих на корекцію порушення комплексної експресії міРНК.

Для досягнення вказаної мети визначено **завдання дослідження**.

1. Відбір пацієнтів з пародонтитом, підписання інформованої згоди, та рандомізація на контрольну, та 2 основні клінічні групи з додатковим призначенням відповідних препаратів: епігалокатехін галату та куркуміну.
2. Визначити рівні експресії комплексів міРНК, які відомі як регулятори остеогенної диференціації: негативні, miR-138-5p та miR-155-5p, позитивні, miR-29b-3p, та контекст-залежні miR-142-3p, miR-27a-3p, в уражених пародонтитом тканинах пародонту, та оцінити зв'язок між клінічним рівнем місцевої деструкції й експресією міРНК.
3. Визначити маркери запалення тканини ясен: рівні прозапальних цитокінів ІЛ-

1 β , ІЛ-6, антизапальних цитокінів – ІЛ-10, TGF- β , та оцінити їх взаємозв'язок із клінічними параметрами при пародонтиті і після лікування.

4. На основі отриманих даних розробити та обґрунтувати концепцію патогенетичної ролі порушень експресії міРНК, які опосередковують деструкцію при пародонтиті.
5. Обґрунтувати та розробити схеми лікування, спрямовані на модуляцію міРНК, що опосередковують пародонтит, на основі використання епігалокатехін галату або куркуміну, здатних модулювати міРНК, та визначити клінічну ефективність та ефективність згідно молекулярних маркерів.

Об'єкт дослідження: запальні механізми у патогенезі пародонтиту.

Предмет дослідження: клінічні і молекулярно-генетичні локальні параметри запалення при пародонтиті і його лікуванні з додатковим системним застосуванням епігалокатехін галату і куркуміну.

Методи дослідження:

- Клінічні методи обстеження: періодонтограма, ортопантомографія, анкета ОНІР-14;
- визначення експресії міРНК, які позитивно регулюються при остеогенній диференціації періодонтальних попередників/прогеніторів: miR-29-3p, 27a-3p, у тканинах пародонту методом зворотно-транскриптазної полімеразної ланцюгової реакції (qRT-PCR) за допомогою системи miRCURY LNA miRNA;
- визначення рівнів міРНК остеогенного диференціювання в умовах запалення: miP-138-5p, miR-155-5p, miR-142-3p, методом (qRT-PCR) за допомогою системи miRCURY LNA miRNA;
- імуноферментне (ІФА) визначення маркерів запалення тканин пародонту: визначення рівнів цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-10, TGF- β ;
- статистична обробка даних методами параметричної та непараметричної статистики з використанням стандартних пакетів програми Prism (GraphPad Software, San Diego, USA).

Наукова новизна. У цьому дослідженні вперше вивчено цілеспрямований вплив на міРНК у комплексі терапії пародонтиту EGCg та куркуміну.

Вперше отримано докази лікувальної ефективності системного прийому EGCg у вигляді клінічних переваг, порівняно з тільки періодонтальним лікуванням, серед яких: достовірне зменшення пропорції ділянок з PPD ≥ 6 мм, зменшення пропорції ділянок з PPD 4–5 мм та зниження BoP, на кінець дослідження, яке тривало 6 місяців.

Уперше в межах даного дослідження клінічні результати періодонтального лікування були доповнені оцінкою пацієнт-орієнтованих показників із застосуванням валідованої анкети Oral Health Impact Profile-14, що дозволило комплексно проаналізувати не лише динаміку клінічних індексів, а й вплив терапії на якість життя пацієнтів. Встановлено, що зміни періодонтальних параметрів супроводжуються достовірним покращенням функціональних та психосоціальних аспектів орального здоров'я на 3й місяць, порівняно з суто періодонтальним лікуванням, що розширює уявлення про клінічну ефективність застосованих лікувальних підходів.

Ефект супроводжувався достовірним підвищенням експресії міРНК у зразках ясен на 3-й місяць: miR-142-3p – порівняно з суто періодонтальною терапією, та miR-138-5p, miR-155-5p, miR-142-3p – порівняно з групою де приймали куркумін. Тобто, відзначено короточасний ефект на міРНК.

Вперше показано клінічні переваги системного застосування курсу куркуміну, які полягали, (окрім аналогічних як для EGCg) у додатковому достовірному зниженні CAL $\geq 3/\geq 4$ мм, порівняно з суто періодонтальним лікуванням. Достовірне покращення функціональних та психосоціальних аспектів орального здоров'я на 3й місяць, порівняно з суто періодонтальним лікуванням, згідно анкетування ОНІР-14, також було пов'язане з курсом куркуміну, і зареєстроване на 3й місяць, як і для EGCg. Клінічні ефекти супроводжувалися достовірними зниженням експресії міРНК: miR-155-5p і miR-27a-3p у зразках ясен, порівняно з суто періодонтальним лікуванням, miR-138-5p, miR-155-5p і miR-142-3p – порівняно з EGCg. Через шість місяців miR-27a-3p залишалася значно зниженою в групі куркуміну, порівняно з періодонтальним лікуванням, що свідчить про тривалість регуляторного ефекту.

Вперше показано, що клінічні ефекти обох нутрицевтиків супроводжувалися достовірним підвищенням рівнів ІЛ-10 і зниженням TGF- β , порівняно з періодонтальним лікуванням, на кінець дослідження. Та додатковим зниженням ІЛ-6, порівняно з періодонтальним лікуванням, після курсу куркуміну. Це може відображати модуляцію місцевих запальних та відновлювальних шляхів, і свідчити про сприяння більш збалансованому періодонтальному мікросередовищу та покращення терапевтичних результатів. Вплив додаткового застосування EGCg та куркуміну в терапії ПД показав імуномодуючі характеристики, при порівнянні з обов'язковим ЗЗВ, виявляючи зрушення цитокінів, які відповідали траєкторії клінічного одужання та свідчили про біологічну активність.

Практичне значення одержаних результатів. Результати досліджень впроваджені у практичну стоматологію. А також у навчальний процес.

Особистий внесок здобувача. Разом із науковим керівником, професором Скрипниковим П.М., було обрано тему, мету, об'єкт та предмет дослідження. За отриманими результатами було сформовано висновки. Здобувач самостійно опрацювала літературні джерела з обраної теми, виконав патентно-інформаційний пошук. Провела роботу з пацієнтами, самостійно провела клінічні дослідження та анкетування пацієнтів, підготувала зразки для лабораторних досліджень, провела статистичний аналіз та інтерпретацію отриманих результатів. Лабораторне дослідження із визначенням рівня експресії міРНК, цитокінів були проведені у НДІ ГІОРПФ ПДМУ, м. Полтава, вул. Шевченка 23. Клінічні дослідження проводились на клінічних базах кафедри післядипломної освіти лікарів-стоматологів ПДМУ, м. Полтава, вул. Стрітенська, 50 та вул. Миру, 3.

Апробація результатів дисертації. На етапах виконання дисертаційної роботи про її результати доповідалося на науково-практичній конференціях:

Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Питання алергії та імунітету в розвитку основних стоматологічних захворювань. Клінічні та патогенетичні аспекти». 24-25 жовтня 2024 р. ПДМУ, м. Полтава.

VII науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» 20 жовтня 2025 р. НФаУ, м. Харків.

Публікації. Основні положення дисертаційної роботи висвітлено у 4 наукових статтях, із яких: 2 - у фахових виданнях категорії Б, рекомендованих МОН України, 2 – у вітчизняних виданнях, що входить до наукометричних баз Scopus та WoS, а також у 3 тезах наукових конференцій.

РОЗДІЛ 1. АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ: СУЧАСНА ДІАГНОСТИКА ТА ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОГО ПАРОДОНТИТУ

1.1 Сучасні дані про етіологію й патогенез хронічного пародонтиту.

Хронічний пародонтит (ПД), згідно сучасної або англомовної термінології «хронічний періодонтит» чи просто «періодонтит» є одним з найбільш поширених хронічних захворювань у світі. Поширеність складає близько 40% популяції [2]. ПД характеризується незворотним прогресуючим руйнуванням періодонту. В даний час прийнята етіологія базується на теорії трьох факторів, включаючи патогенні бактерії, фактори господаря та набуті фактори [10].

«Пародонтологія є найбільш доказовою та найбільш досліджуваною з усіх стоматологічних дисциплін тому що кількість публікацій у базі даних PubMed на цю тему переважає 85 тис.» [11], і це обґрунтовує важливість системного підходу до аналізу літератури.

Згідно із сучасною концепцією [12], ПД – це хронічне багатфакторне запальне захворювання, пов'язане з дисбіотичною зубною біоплівкою, що характеризується прогресуючим руйнуванням періодонту та прилягаючих тканин пародонту. ПД є основною проблемою громадського здоров'я через високу поширеність, адентію, дисфункцію жування та естетику, соціальну нерівність,

погіршення якості життя, значні витрати на стоматологічну допомогу. Має негативний вплив на загальне здоров'я та якість життя [13].

Сучасні молекулярно-генетичні мікробіологічні методи дозволили з'ясувати що перехід від періодонтального здоров'я до ПД відбувається за принципами екологічної послідовності зі зміною співвідношення видів, але не придбанням нових мікроорганізмів. Підтверджено що біоплівки, пов'язані з гінгівітом і ПД, мають більшість спільних видів (хоча й з кількісними відмінностями). Отже, групи бактерій, їх співвідношення, а не окремі види, можуть відповідати гінгівіту і ПД [14,15].

Під'ясенна зубна біоплівка викликає запальну та імунну реакцію господаря, що зрештою призводить до незворотного руйнування періодонту (періодонтальної зв'язки та альвеолярної кістки) у чутливого господаря. Щоб успішно лікувати ПД, стоматологи повинні розуміти патогенез, первинну етіологію, фактори ризику, сприятливі фактори та протоколи лікування. Ретельна діагностика, усунення причин і зменшення модифікуємих факторів ризику є найважливішими для успішної профілактики та лікування ПД [16].

Наступна добірка досліджень присвячена вже вивченим механізмам ПД.

Так, раніше показано, що безперервне або надмірне вироблення цитокінів, таких як IL-1 β , може бути використано як клінічний маркер тяжкості ПД [17]. IL-1 β впливає на численні клітини, включаючи фібробласти, хондроцити, кісткові клітини, нейтрофіли та лімфоцити, що свідчить про те, що при ПД руйнування та відновлення періодонта можуть бути пов'язані з IL-1 β [18-20]. IL-1 стимулює вироблення інших медіаторів запалення та ферментів, що ще більше посилюють пошкодження тканин [21].

IL-2 відіграє складну роль при ПД, і дослідження вказують як на захисний, так і на потенційно шкідливий вплив що сприяє прогресуванню захворювання. Хоча деякі дослідження вказують на вищі рівні IL-2 у ясенній рідині пацієнтів з ПД, інші припускають захисну роль через модуляцію балансу клітин Th17/Treg [22].

IL-4, протизапальний цитокін, відіграє складну роль у розвитку ПД. Хоча загалом вважається захисним, оскільки він знижує запалення та резорбцію кісток,

у деяких випадках його також пов'язують із загостренням ПД. Ця подвійність зумовлена його багатограним впливом на імунну відповідь та метаболізм кісткової тканини [23].

Фактор некрозу пухлини альфа (TNF- α) сприяє розвитку та прогресуванню ПД [24].

IL-6 – ключовий цитокін, який бере участь у розвитку та прогресуванні ПД [25].

IL-10 – протизапальний цитокін, який може сприяти зменшенню запальної реакції при ПД і пригнічує вроджену імунну відповідь [26,27].

IFN- γ є ключовим прозапальним цитокіном, сприяє запаленню та імунній відповіді. У контексті ПД він сприяє запальному каскаду, який пошкоджує ясна та кістку, що їх підтримує [28].

TGF- β 1 – це багатофункціональний цитокін, який регулює ріст, диференціацію та утворення матриксу клітин. TGF- β 1 може сприяти як регуляції запалення, так і подіям ремоделювання під час ПД. Зниження регуляції TGF- β 1 при активному ПД відіграє роль у руйнуванні тканин та резорбції кістки [29].

Дефензини (тип антимікробних пептидів) відіграють роль у захисті вродженої імунної системи від захворювань пародонту. Вони виробляються організмом і допомагають боротися зі шкідливими бактеріями, особливо в ясенній борозні, де і починається ПД. Специфічні бета-дефензини, такі як HBD-1, HBD-2 та HBD-3, знаходяться як у здорових, так і в уражених тканинах пародонту, що свідчить про їхню участь як у захисті, так і в прогресуванні захворювання. Концентрація дефензину DEFA-1 у ясенній рідині, виміряна за допомогою аналізу ELISA, при ПД (середнє значення 911,37 нг/ $\pm$ мл391,05) була значно вищою, ніж у групі періодонтально здорових пацієнтів (середнє значення 35,54 нг/ $\pm$ мл30,64) ($p = 0,0012$) [30].

Інші маркери деградації/деструкції періодонту включають кальпротектин; дезоксипіридинолін-вміщуючий фрагмент деградації С-кінцевої телопептидної області колагену I типу (deoxypyridinoline-containing degradation fragment of the C-

terminal telopeptide region of type I collagen (CTX)), остеокальцин, остеоонектин, імуноферментне визначення рівнів яких описано в літературі.

Кальпротектин – це кальцій-зв'язуючий білок родини білків S-100, який, як виявлено, індукується активованими гранулоцитами, моноцитами та епітеліальними клітинами. Було показано, що кальпротектин відіграє важливу роль у численних запальних захворюваннях та розладах. Все більше доказів свідчать про те, що цей білок бере участь у прогресуванні ПД, а його рівні можуть бути пов'язані з тяжкістю захворювання та результатами періодонтального лікування. Отримані результати свідчать про те, що кальпротектин може бути ефективним біомаркером для діагностики та лікування ПД [31].

CTX, остеокальцин та остеоонектин добре корелюють з втратою альвеолярної кісткової тканини внаслідок ПД та PPD. Серед трьох біомаркерів, остеоонектин при концентрації 81,80 нг/мл забезпечував найкращу розрізняльну здатність для визначення наявності або відсутності втрати кісткової маси [32].

Отже, додаткові критерії, які слугують маркерами активності ПД, важливо використовувати у дослідженнях. Комбінування у дослідженні вже відомих показників з новими критеріями може пов'язати їх з новими знахідками, а також пояснити більш повний спектр та послідовність подій та вплив на клінічну маніфестацію, що дозволить краще спрямувати лікування.

1.2 Роль мікроРНК в патогенезі пародонтиту і методи їх дослідження

Отже, описано перелік обмежень для точної клінічної оцінки активності ПД [3,33]. Останніми роками зріс попит на біомаркери, і джерелами обирають слину, кривікулярну рідину і тканини ясен. З іншої сторони, пошук нових механізмів патогенезу призводить до вибору відповідних субстратів тестування та методів дослідження.

Епігенетичні варіації і генетичні поліморфізми можуть змінювати вроджені і адаптивні імунні відповіді, викликаючи індивідуальні відмінності у клінічних проявах запалення та відповіді на лікування. мікроРНК (міРНК) довжина яких

становить 21–23 нуклеотиди, є короткими некодуючими РНК, які модулюють експресію генів, взаємодіючи з цільовими інформаційними РНК і пригнічують їх трансляцію [34]. міРНК експресуються за тканино специфічним шаблоном. Профілі експресії міРНК відрізняються між захворюваннями та нормальними тканинами. Численні міРНК, контролюючи експресію генів, відіграють важливу роль у гомеостазі та при розвитку запальних захворювань. На сьогодні відома лише частина міРНК, які беруть участь у підтриманні здорового стану чи захворювань періодонту.

Цей підрозділ аналізує наукові джерела літератури, присвячені дослідженням ролі міРНК при ПД з використанням різних методів дослідження для з'ясування перспектив подальших досліджень. Для досягнення систематичності в огляді було дотримано керівництва PRISMA [35].

Масив джерел, що підлягали попередній оцінці або скринінгу, були присвячені пошуку міРНК-кандидатів та з'ясуванню ролі різних міРНК як предикторів та діагностичних маркерів при ПД на експериментальних моделях тварин, культурах клітин, оглядах літератури, аналізі даних бази Gene Expression Omnibus (GEO), а також у кроссекційних, когортних, випадок-контроль дослідженнях та 3 дослідженнях з первинною періодонтальною терапією.

Виявлено 35 міРНК, які були достовірно змінені при власне ПД, порівняно із здоровими яснами, і 15 з них корелювали з клінічними проявами ПД (Табл.1.1). Дослідження відрізнялися субстратами виділення РНК, якими були: кревікулярна рідина, слина, плазма крові, або екзосоми з цих субстратів, та біоптати ясен. Кінцевим методом визначення певних міРНК у всіх дослідженнях була зворотно-транскрипційна ПЛР у реальному часі (qRT-PCR).

Таблиця 1.1

Досліджені міРНК, їх зміни та методи дослідження при періодонтиті за останні 5 років

miРНК	Зміни при хронічному періодонтиті	Субстрат та методи дослідження	Джерела літератури
miR-26a-5p miR-26b-5p	Знижені при ПД, корелюють із клінічними параметрами; відновлювались до норми через 4-6 тижнів після нехірургічної терапії	Тканина ясен. qRT-PCR	[36]
hsa-miR-664a-3p, hsa-miR-501-5p, hsa-miR-21-3p	Підвищені при ПД	Сироватка. Мікрочіпування, qRT-PCR	[37]
hsa-miR-381-3p	Вище при тяжчій формі ПД	Слина. ПЛР масиву qRT-PCR	[38]
hsa-miR-5571-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-miR-99a-5p, hsa-miR-28-5p, hsa-miR-320d	Асоційовані із прогресуванням ПД	Слина. Мікрочіпування, qRT-PCR	[39]
miR-130a	Високий рівень експресії при ПД	Кревікулярна рідина. qRT-PCR	[40]
miR-28-5p	Слабко експресований при ПД, негативно корелює з клінічними показниками	Кревікулярна рідина. Загальна РНК – TRIzol, qRT-PCR	[41]

	пародонту та факторами запалення		
miR-30b-3p miR-125b-1-3p	Залежали від тяжкості ПД	Кревікулярна рідина. РНК – TRIzol, qRT-PCR	[42]
miR-155	Підвищені при ПД, порівняно із здоровими яснами	Тканина ясен, кров. qRT-PCR	[43]
hsa-miR-125a-3p hsa-miR-let-7d, hsa-miR-126-3p, hsa-miR-199a-3p	Відрізняються при ПД і у здорових пацієнтів	Екзосоми слини та плазми крові. платформа Agilen, Мікрочіпування	[44]
miR-200a-3p, miR-200a-5p, miR-200b-3p, miR-200b-5p, miR-200c-3p, miR-200c-5p miR-141 miR-429	Підвищені при ПД, порівняно із здоровими, достовірно позитивно корелювали з індексами нальоту, гінгівіту, кровоточивості, рівнем прикріплення і глибиною зондування. Змінювались недостовірно	Кревікулярна рідина. GSE89081 dataset profiled miRNAs qRT-PCR	[45]

miR-1226	Даунрегульована при ПД, порівняно із здоровими. Негативно корелювала з глибиною кишень, втратою прикріплення, індексами нальоту і кровоточивості	Кревікулярна рідина. qRT-PCR	[46]
miR-23a miR-146a	Вище ніж у здорових, збільшується із погіршенням ПД, після лікування достовірно знижуються.	Стимулявана слина. qRT-PCR	[47]
miR-142, miR-144, miR-200b, miR-223	Знижувалась після початкового лікування ПД. Підвищилась після лікування. Знижувалась після лікування. Знижувалась після лікування	Екзосоми, виділені зі слини. qRT-PCR у реальному часі	[48]

Далі проаналізовані механізми залучення міРНК у патогенез ПД.

Uttamani et al. (2023) [36] визначили кілька генів-мішеней miR-26a-5p, включаючи PLCB1 – мембранно-асоційований білок, який відіграє ключову роль у внутрішньоклітинних шляхах передачі сигналу, пов'язаних з реорганізацією цитоскелета та рухом клітин. Даунрегуляція miR-26a-5p корелювала з підвищенням регуляції PLCB1. Функціональний аналіз визначає miR-26a-5p як негативний регулятор клітинної міграції. Більш високі рівні miR-26a-5p індукують цитокінову відповідь проти періодонтальних патогенів (живих або їхніх антигенів),

а порушення її регуляції може погіршити імунну відповідь. Спостереження зниженої експресії miR-26a-5p і miR-26b-5p в уражених тканинах ясен і відновлення до рівнів, порівнянних зі здоровими яснами після лікування, засвідчує той факт, що члени сімейства міРНК-26 можуть знадобитися для відновлення гомеостазу тканин пародонта при запаленні і в модулюванні рівнів прозапальних цитокінів/хемокинів.

Yoneda et al. (2019) шукали зв'язок між профілями міРНК сироватки та ПД [37]. Дослідження показало, що гени-мішені miR-664a-3p і miR-21-3p тісно пов'язані з сигнальними шляхами MAPK, які відіграють важливу роль у прогресуванні цукрового діабету і міокардіофіброзу. Цільовий ген miR-664a-3p також пов'язаний із сигнальними шляхами інсуліну. Крім того, гени-мішені miR-664a-3p, miR-501-5p і miR-21-3p тісно пов'язані зі шляхами розвитку раку. Більш високі рівні miR-664a-3p, miR-501-5p і miR-21-3p у сироватці крові пацієнтів з періодонтитом можуть впливати на патогенез цукрового діабету, серцево-судинних захворювань і раку через вплив на експресію мРНК і регуляцію транскрипції. Дослідження цих мікроРНК може покращити розуміння періодонтально-системного зв'язку.

Підвищена експресія hsa-miR-381-3p, за даними Fujimori et al. (2019), може бути пов'язана з посиленням імунної відповіді на під'ясенні бактеріальні патогени, такі як ліпополісахарид [38]. Цільові гени hsa-miR-381-3p корелюють із сигнальним шляхом MAPK, який, у свою чергу, пов'язаний з апоптозом, запаленням, ПД [49], та з іншими вище згаданими патологіями. Таким чином, можливо, що модульована експресія hsa-miR-381-3p у слині впливає на стан пародонту через сигнальний шлях MAPK. Експресія hsa-miR-381-3p у слині не тільки відображає стан пародонта, але також може впливати на тканини пародонта.

Біоінформаційний аналіз припустив, що цільові гени hsa-miR-5571-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-miR-200a-3p, hsa-miR-28-5p і hsa-miR-320 залучені в патологію пародонту. Ці міРНК також беруть участь у регуляції генів сигнального каскаду MAPK [49]. Таким чином, змінена експресія і цих міРНК у слині може впливати на прогресування ХП, так само, через сигнальний шлях MAPK. Крім того, hsa-miR-

99a-5p асоційована з хемокінами. Хемокіни в основному регулюють міграцію лейкоцитів. Отже висока експресія hsa-miR-99a-5p може пригнічувати міграцію лейкоцитів і впливати на прогресування ПД [39].

miR-130a пов'язана із запаленням та має аномальну експресію у пацієнтів із остеоартритом, лейкемією, ПД, але цільовий ген і цільовий білок, не з'ясовані [40].

miR-28-5p може бути пов'язана з цільовим геном SPHK1, що є кіназою в метаболізмі сфінголіпідів, і яка визнана критичним фактором у регуляції запальної відповіді та клітинного імунітету [41].

Дві нові мікроРНК, miR-30b-3p і miR-125b-1-3p, виділені з кривікулярної рідини при ПД, позитивно корелювали з рівнями IL-1 β , IL-6 і TNF- α кривікулярної рідини (раніше повідомлялося що ці міРНК пов'язані з продукцією цитокінів та запальними захворюваннями), і їх підвищена експресія була пов'язана з розвитком і прогресуванням ПД [42].

У дослідженні [43] оцінено рівні експресії miR-155 та його цільових генів TNF- α та IL-6, у зразках ясен та крові пацієнтів із ПД, та виявили збільшення експресії miR-155, TNF- α та IL-6, але не вловлена кореляція між рівнем експресії TNF- α та IL-6.

hsa-miR-125a-3p з екзосомальних зразків слини та hsa-miR-let-7d, hsa-miR-126-3p і hsa-miR-199a-3p з екзосом плазми значно відрізнялися між ПД та здоровими зразками, мали хорошу дискримінаційну цінність і корелювали із середнім значенням періодонтальної глибини, тому охарактеризовані як надійні кандидати на біомаркери ПД [44].

Сімейство miR-200 складається з двох кластерів генів: miR-200a/miR-200b/miR-429, розташованих на хромосомі людини 1p36.33, і miR-200c/miR-141 на хромосомі 12p13.31. Це сімейство регулює різні гени, відповідальні за різні лінії епітеліальних клітин зубів [49,50]. Члени сімейства miR-200 регулюють вроджену імунну відповідь, націлюючись на сигнальний шлях TLR4 через MyD88, який є важливим для передачі сигналів через TLR [51]. TLR відіграють значну роль у виникненні раннього ПД та сприянні його прогресуванню, і рівні експресії TLR4 демонструють помітне збільшення при гінгівіті та у різних тканинах пародонту,

включаючи епітелій кишень, шар шипоподібних епітеліоцитів, фіброblastи ясен, фіброblastи періодонтальної зв'язки та сполучної тканини [52-54]. При спільному визначенні шести miR-200 (miR-200a-3p, miR-200a-5p, miR-200b-3p, miR-200b-5p, miR-200c-3p і miR-200c-5p), продемонстрована висока діагностична цінність з AUC 0,997, чутливістю 99,03 % і специфічністю 98,23 % [45]. Окремо, про miR-200a – відомо про порушення при кількох запальних захворюваннях, зокрема MiR-200a-5p значно підвищувався в біоптатах печінки пацієнтів з гепатитом С із прогресуючим фіброзом, порівняно з раннім фіброзом [55]. MiR-200b підвищується у кривікулярній рідині і тканинах ясен при ПД і позитивно корелює з TNF- α [56,57], у тканинах ясен пацієнтів із ПД та ожирінням [58]. Крім того, miR-200b-3p і miR-200b-5p у кривікулярній рідині підвищуються при ПД та серцево-судинних захворюваннях, порівняно зі здоровими контрольними особами та особами лише з серцево-судинними захворюваннями [59]. Цитокіни IL-1 β , IL-6 і TNF- α , індукували експресію miR-200b у ясенних фіброblastах людини, а miR-200b ослаблювала продукцію запальних цитокінів, таких як IL-6 та IL-1 β через петлю негативного зворотного зв'язку з шляхом NF- κ B у запалених яснах [60]. І, нарешті, miR-200c безпосередньо націлюється на 3' UTR IL-6, IL-8, пов'язаного з інтерфероном регулятора розвитку 1 (Ifrd1) і ліганду 5 хемокіну (CC-мотив) (CCL-5), і знижує їх експресію в періодонтальній зв'язці людини, ясенних фіброblastах та у пародонті щурів з ПД [60]. Повідомлялося, що MiR-200c-3p виконує протизапальну роль у преостеобlastах і ясенних фіброblastах людини, ослаблюючи розвиток ПД [61].

Попередні дослідження повідомляли про функціональну роль miR-1226 при захворюваннях людини. Рівень експресії miR-1226 негативно корелював з підвищеними рівнями IL-1 β , IL-6 і TNF- α , що вказує на зв'язок з тяжкістю ПД та можливу причетність до активації ПД [46].

Дослідження [47] встановили явні позитивні кореляції між miR-23a та miR-146a слини та IL-1 β , IL-6 та IL-17 слини, що свідчить про те, що miR-23a та miR-146a мали регуляторні зв'язки з IL-1 β , IL-6 та IL-17, хоча за відсутністю

базових експериментів, ці кореляції miR-23a і miR-146a з ПД не були глибоко досліджені.

Дослідження [48] надають певні дані про miR-142, miR-144, miR-200b та miR-223. Рівні експресії miR-142 і miR-223 в екзосомах слини пацієнтів з ПД були значно вищими, ніж в екзосомах слини здорових людей, і значно знизилися після первинної періодонтальної терапії. Рівні експресії miR-143 в екзосомах слини пацієнтів з ПД були подібні до рівня експресії в екзосомах слини здорових людей, але значно знизилися після первинної періодонтальної терапії. Раніше з'ясовано, що miR-142 активується під впливом TNF- α в епітеліальних клітинах ясен людини шляхом пригнічення основної експресії фактора транскрипції лейцинової блискавки 2 [62]. А miR-223 і miR-200b у сироватці крові та кривікулярній рідині можуть відігравати роль у патогенезі ПД, пов'язаного з діабетом 2 типу, за рахунок здатності індукувати секрецію TNF- α [56]. Ці дані свідчать про те, що зміни рівнів експресії miR-142, miR-143 і miR-223 в екзосомах слини відображають патологію ПД і можуть служити ефективними біомаркерами захворювання. Не спостерігалось істотних змін у рівнях експресії miR-144, miR-150 та miR-200b [48], які, як повідомляється, були високо експресовані в слині пацієнтів із раком стравоходу (miR-144) або яснах пацієнтів із ПД (miR-150 і miR-200b) [57,63].

Таким чином, міРНК беруть участь практично в усіх клітинних процесах і є важливими для розвитку тварин, диференціації клітин і гомеостазу, опосередковано через пригнічення експресії генів, шляхом інгібування трансляції на етапі ініціації. міРНК утворюють складні мережі взаємодій, оскільки одна міРНК може націлюватися на багато різних мРНК, і одна мРНК може регулюватися багатьма різними міРНК, що показано на тваринах [64], і простежується у даному огляді (Табл. 1.2). Експресія miRNA-комплексів залежить від типу клітин, їх стану (біогенез і епігенетичні механізми), впливу цитокінів і міжклітинної комунікації через екзосоми і міковезикули. Тож залучення міРНК у патогенез ПД передбачуване, а накопичення і систематизація даних про внесок у патогенез відбувається закономірно. Для деяких міРНК попередньо з'ясовано гени-мішені, які залучені у патогенез ПД (Табл. 1.2).

**Досліджені при хронічному пародонтиті міРНК за останні 5 років та їх
вірогідні гени-мішені**

Передбачені гени-мішені міРНК	Досліджені міРНК при ПД	Джерело літератури
Білок PLCB1	miR-26a-5p	[36]
Сигнальний шлях MAPK	miR-664a-3p і miR-21-3p hsa-miR-381-3p hsa-miR-5571-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-miR-200a-3p, hsa-miR-28-5p і hsa-miR-320	[37, 38, 49]
Цитокіни	miR-26a-5p, можливо інші члени родини члени сімейства мікроРНК-26	[36]
IL-1 β , IL-6 і TNF- α TNF- α та IL-6	miR-30b-3p і miR-125b-1-3p miR-155	[40, 43]
IL-6, IL-1 β , TNF- α	miR-200b	[45, 60]
3' UTR IL-6, IL-8, пов'язаний з Ifrd1	miR-200c	[61]
Хемокіни CCL-5	hsa-miR-99a-5p miR-200c	[39, 61]
Сигнальний шлях інсуліну	miR-664a-3p	[37]
SPHK1	miR-28-5p	[41]
BACH2	miR-142	[62]

Ряд мікроРНК вивчались при запаленні, порушенні метаболізму кісток, розвитку пухлин, ПД та інших патологічних процесах, що може бути використано для пошуку мішеней впливу з лікувальною ціллю при ПД. Про miR-138-5p з досліджень відомо: 1) що вона пригнічує апоптоз через сигнальний шлях Bcl-2 [65]; 2) залучена у процеси фероптозу в лінії пігментних епітеліальних клітин сітківки при підвищених рівнях глюкози [66]; 3) роль при певних видах раку: доставляється з клітин раку молочної залози через екзосоми і сприяє M2-макрофагам [67]; 4) є препарат, який пригнічує цю miR – це Астрагалозид-IV, видобутий з рослини *астрагалу*, і його вплив на клітини пігментного епітелію сітківки при діабетичній ретинопатії показав певний захист від ушкодження під впливом глюкози; 5) застосування імітатору miR-138-5p на клітинах лінії раку легень пригнічувала експериментальні аденоми і плоскоклітинні карциноми легень, що вважається перспективним для попередження [68]; 6) miR-138-5p залучена в процеси збірки інфламасом, клітинної міграції, пригнічення сигналізації Sirt1 (сіртуїн 1), регуляцію гену зворотної транскриптази гену теломерази людини, (сіртуїни – «протеїни молодості» – ці білки регулюють експресію генів, використовуючи епігенетичні механізми, і беруть участь в усуненні пошкоджень ДНК) [69]. Потенційно регулює стовбурові клітини періодонту, оскільки впливає на гомеостаз під час запальних станів; пригнічує лужну фосфатазу (маркер диференціювання остеобластів) [70].

Отже – роль miR-138-5p – це участь в каскадах апоптозу і запалення, а відтак регуляція старіння та тривалості життя. Рівень мікроРНК miR-138-5p при періодонтиті не вивчався у людини, і ми припускаємо що він змінений, на фоні розвитку такої патології як ПД. Також важливе питання – яким буде ефект впливу препаратами на місцевому рівні в запалених яснах. Тим не менше, на моделі ПД у тварин, спостерігалось значне підвищення рівня miR-138 [70].

MiR-29b-3p, відома, як така, що сприяє RANKL-індукованій резорбції кістки, але пригнічує TNF- α -індукований остеокластогенез, вказуючи на те, що ця міРНК має плейотропну дію на гомеостаз кісткової тканини і запальний остеоліз і, за деякими даними, відіграє вирішальну роль при остеоартриті та багатьох інших захворюваннях [71]. Експресія miR-29b-3p явно підвищена в тканинах при остеоартриті і може сприяти його розвитку [72]. Пригнічення сімейства miR-29-3p може сприяти апоптозу хондроцитів і остеоартриту [73], також, потенційно, може мати роль в патогенезі і ПД, і не досліджувалась саме при ПД до 2021 року, але останнім часом визначена на підвищеному рівні (як і miR-155-5p) при ПД [74], та при ортодонтичному переміщенні зубів [75]. Вивчаються різні шляхи та механізми регулювання остеохондральної системи через miR-29b-3p [76-79].

Крім того, miR-29b-3p останнім часом досліджується в контекстах: патології нирок [80], кардіоміоцитів [81,82], раку різних локалізацій [83-86], фіброзу [87-90], старіння [91]. Спільною точкою прикладення може бути ген-мішень miR-29b-3p – SEC23A. Білок, який кодується цим геном, є членом підродини SEC23 родини SEC23/SEC24. Він є частиною білкового комплексу і міститься у вільній від рибосом перехідній поверхні ендоплазматичного ретикулуму (ER) і пов'язаних з нею везикулах. Цей білок має схожість з дріжджовим компонентом Sec23p COPII. (COPII – це білковий комплекс оболонки, відповідальний за брунькування везикул з ER.) Вважається, що закодований білок відіграє певну роль у транспортуванні білка ER-Golgi [92].

І нарешті, SIRT1 було ідентифіковано як мішень miR-29b-3p за допомогою репортерних аналізів люциферази (у мишей). MiR-29b-3p пригнічує остеогенез у постменопаузі, блокуючи вісь SIRT1/PPAR γ [93]. Ці результати свідчать про те, що постменопаузальний остеопороз можна лікувати шляхом націлювання на miR-29b-3p SIRT1/PPAR γ .

Сімейство miR-27 було оцінено як один з діагностичних або прогностичних маркерів судинного запалення [94]; бере участь в ангіогенезі, апоптозі, регуляції ліпідів та виробленні цитокінів, головним чином в ендотелії, що сприяє розвитку атеросклерозу [95].

MiR-27a-3p, є ключовим посередником адипогенезу у людини [96], але заслуговує на увагу у тематиці цього розділу і дослідження тому що сприяє зниженню остеогенної диференціації при остеопорозі [97].

Також, MiR-27a-3p належить роль при фіброзі і туморогенезі [98-100]. Зокрема, передбачувана мішень це PTEN, ген, який кодує білок фосфатазу та тензин-гомолог. PTEN впливає на сигнальний шлях PI3K/Akt, який бере участь у багатьох клітинних процесах, включаючи ріст, виживання та апоптоз.

При ПД, miR-27a-3p була активована в клітинах періодонтальної зв'язки, порівняно зі здоровими зразками, а її пригнічення мало участь у каскаді miR-27a-3p/IGF1 по зниженню остеогенної диференціації культури цих клітин [101]. Дослідження на клітинах періодонтальної зв'язки, виділених від пацієнтів з ПД, показують, що miR-27a-3p підвищена при ПД і пов'язана з інфільтрацією імунними клітинами [101,102]. Але, за іншими даними, на клітинних і на тваринних моделях, запалені ясна містили нижчі рівні miR - 27a - 5p [102]. Очевидно, що специфічна роль miR - 27a - 5p при ПД потребує подальшого вивчення.

Як згадано вище, miR-155-5p (разом з miR-29-3p) нещодавно визначена на підвищеному рівні при ПД [74] при агресивному/швидко прогресуючому ПД [103,104] та при ортодонтичному переміщенні зубів [75].

Через механізми, пов'язані із функцією miR-155-5p, вчені простежують взаємозв'язок або спільні ланки патогенезу ПД з атеросклерозом [105], ПД з синдромом Шагрена [106], ПД і виразкової хвороби [107].

MiR-155-5p залучена до резорбції коренів зубів під впливом ортодонтичних сил, пригнічуючи диференціювання остеокластів через CXCR2 і зменшуючи її ступінь [108].

В аспекті регенерації періодонту, остеогенна диференціація стовбурових клітин періодонтальної зв'язки має важливе значення в лікування ПД. Експресія miR-155-5p з часом знижується в диференційованих стовбурових клітинах періодонтальної зв'язки людини, і через різні впливи на miR-155-5p можна регулювати цю остеогенну диференціацію [109]. Ці самі стовбурові клітини, якщо їх стимулювали ЛПС *P.gingivalis*, виділяли екзосоми із зменшеним вмістом miR-

155-5p і вищою експресією Sirt-1, порівняно із нестимульованими клітинами зв'язки. Ці екзосоми послабляли запальне мікро оточення через мережу регуляції Th17/Treg/miR-155-5p/SIRT1 [110].

Крім того, як і багато описаних вище міРНК, hsa-miR-155-5p пов'язана із розвитком злоякісних пухлин. Вона сприяє втраті геномної цілісності в ракових клітинах, націлюючись на гени, що беруть участь у нестабільності мікросателітів і репарації ДНК [111].

Отже, miR-155-5p дуже імовірно відіграє роль у патогенезі ПД, експресуючись у різних видах клітин, зокрема: макрофагах, клітинах періодонту, остеобластах/остеокластах, і регулюючи їх фенотип.

MiR-142-3p, а також ще 8 мікроРНК (miR-15a, miR-22, miR-30d, miR-103, miR-106b, miR-130a, miR-185 та miR-210) були значно активовані при сполученні ПД й ожиріння [112]. Прогнозовані мішені включають 69 різних мРНК з генів, які кодують цитокіни, хемокіни, специфічні колагени та регулятори метаболізму глюкози й ліпідів. Експресія специфічних видів мікроРНК при ожирінні, які також можуть націлюватися та посттранскрипційну модуляцію мРНК цитокінів, дає нове розуміння можливих механізмів того, як фактори ризику можуть змінювати періодонтальне запалення, і може представляти нові терапевтичні мішені [112].

MiR-142-3p знижується в *T.denticola*-інфікованих нижніх щелепах мишей протягом 16 тижнів інфікування [113].

MiR-142-3p безпосередньо регулює протеїнкіназу Ca (PKCa), ключовий ген, який бере участь у фагоцитозі. Цікаво, що miR-142-3p і PKCa демонструють антагоністичну експресію під час диференціювання макрофагів і дендритних клітин. Короткий інтерферуючий РНК-опосередкований нокдаун PKCa в макрофагах призводить до зниження поглинання бактерій, ще більше підкреслюючи роль гена у фагоцитозі. Загалом, ці результати демонструють, що miR-24, miR-30b і miR-142-3p регулюють фагоцитоз і пов'язане продукування цитокінів у мієлоїдних запальних клітинах шляхом модуляції різних генів, залучених до цього шляху [114].

В експерименті з культурою стовбурових клітин періодонту людини miR-142-3p пригнічує остеогенну диференціацію hPDLSC шляхом зниження експресії кінази SGK1 [115].

Під час диференціації первинних моноцитів людини до макрофагів і дендритних клітин, примусова експресія miR-142-3p (а також miR-24, miR-30b), які знижуються під час диференціювання, пригнічує вивільнення запальних цитокінів (TNF- α , IL-12(p40), IL-6) при стимуляції ЛПС [116].

Поруч із miR-142-3p, рівні експресії hsa-miR-130a-3p, -144-3p, -144-5p, -223-3p, -17-5p та -30e-5p підвищуються в яснах при ПД. міРНК ясен об'єднують складні регуляторні мережі, що призводить до посилення експресії гена *MET* (рецептор мітогенного фактора росту гепатоцитів, який секретується фібробластами). Цей ген у центрі подій міграції та інвазії мезенхімальних клітин під час ремоделювання та проліферації тканини ясен у відновленні гомеостазу періодонтальних тканин після активного запалення [117].

Очевидно, що miR-155-5p, miR-29b-3p, miR-27a-3p, miR-142-3p та інші можуть брати участь в патогенезі ПД, тому важливим питанням є те, які препарати здатні впливати на ці мікроРНК. У цьому контексті, PPAR γ пов'язаний з miR-29b-3p через вісь із залученням сіртуїну 1 [9]. MiR-138-5p також пов'язана з Sirt 1, як вже згадано вище. А ген PPAR- γ є одним із цільових генів для miR-27a-3p [118]. До того ж, показана PPAR γ -опосередкована регуляція miR-142-3p (що призводить до пригнічення експресії HMGB1 (пізнього прозапального медіатора), і є, у свою чергу, новим протизапальним механізмом PPAR γ) й відіграє важливу роль у лікуванні запальних захворювань [119]. Оскільки транскрипційна регуляція мікроРНК залежить, поряд із сигнальними шляхами, від транскрипційних факторів (NF- κ B, AP-1, p53, SMADs), то сигналізація з PPAR γ має важливе значення.

Таким чином, експресія та функціональна активність комплексів мікроРНК є клітинно-специфічними і залежать від типу клітин, їх диференціювання та мікрооточення. У фібробластах, епітеліальних клітинах і імунних клітинах пародонтальних тканин формуються різні профілі miRNA, що визначають регуляцію запалення, ремоделювання позаклітинного матриксу та кісткового

метаболізму. На експресію miRNA суттєво впливають прозапальні цитокіни (IL-1 β , TNF- α , TGF- β), гіпоксія та бактеріальні фактори мікробіому. Крім того, ефективність дії miRNA визначається регуляцією їх біогенезу (Drosha, Dicer, AGO-білки) та доступністю мРНК-мішеней у конкретному клітинному контексті. Отже, комплекси miRNA виступають важливими молекулярними регуляторами взаємодії між імунною відповіддю господаря та тканинною деструкцією при періодонтиті.

Окремий важливий висновок: не виявлено жодного дослідження що вивчало б цілеспрямований вплив препаратів на міРНК при ПД. І хоча терапевтичне таргетування мікроРНК для лікування захворювань пародонту все ще перебуває на початковій стадії, переконливі докази цього принципу надаються дослідженнями імунних захворювань та імунних відповідей до пухлин на тваринних моделях.

Вивчення мікроРНК у періодонтальних тканинах та яснах при ПД, з метою подальшого впливу на них ліками, може становити перспективний підхід в оптимізації лікування, що допоможе б зменшувати запальну деструкцію. Серед досліджених міРНК є перспективні кандидати у якості мішеней для корекції з метою оптимізації лікування, особливо ті, для яких передбачено гени-мішені, залучені у патогенез ПД.

1.3 Аналіз сучасного менеджменту пацієнтів з пародонтитом для з'ясування перспективних напрямків та тенденцій

Серед сучасних напрямків простежуються кілька. По-перше, пов'язаний із сучасними технологіями в стоматології, які зосереджені на місцевому менеджменті. По-друге, це системні впливи з різними цілями, але в кінцевому рахунку, мають на меті обмежити деструкцію опорних тканин, включаючи ясна. І умовно третій напрямок – це підходи використання препаратів та технологій, які мають механізм дії на системному рівні, але для локального застосування.

До умовно першого технологічного напрямку відносять від кюрет Грейсі, апаратів для зняття зубних відкладень (AirFlow, Vector) і порошків різної

дисперсності округлості і діаметру, запатентованих складів полірувальних апаратних рідин для обробки поверхні оголених поверхонь коренів. А також досить широкий спектр антисептиків.

Найбільш використовувані пероральні антисептики включають хлоргексидин (ХГ), ефірні олії, триклозан і сполуки четвертинного амонію [120]. ХГ є найбільш вивченим і вважається ефективним пероральним антисептиком, і зазвичай його виготовляють у вигляді полоскання рота з концентрацією 0,2% або 0,12%. ХГ може оборотно зв'язуватися з тканинами порожнини рота і залишатися там навіть більше 12 годин.

Існують ризики, що надмірне використання певних антисептичних рідин для полоскання рота, включаючи хлоргексидин, може сприяти резистентності бактерій. І практикуючі стоматологи повинні прагнути порадити антисептики, які підтримують «збалансований», здоровий і різноманітний мікробіом, при лікуванні будь-яких захворювань ротової порожнини, спричинених мікробами. Є деякі перші припущення, що рідина для полоскання рота, яка містить пробіотики та прополіс, могла б бути більш «збалансованою» [121].

Фотодинамічна терапія в доповненні до ЗЗВ має потенціал для покращення пародонтальних параметрів, таких як клінічна втрата або посилення прикріплення, зменшення кровоточивості під час зондування та глибини кишень. Крім того, фотодинамічна терапія знижує кількість збудників пародонту та маркерів запалення, що, у свою чергу, зменшує прогресування пародонтиту. Може вважатися перспективним, додатковим і недорогим терапевтичним методом, ефективним у відновленні тканин, зменшенні хронічного пародонтиту, зменшенні запалення та добре переноситься пацієнтами [122].

Обмежене число досліджень антибактеріальної фотодинамічної терапії рекомендує її використання для покращення клінічних параметрів при агресивних формах пародонтиту (швидке прогресування або молярно-різцевий тип ураження, або ступінь С) при CAL > 7 мм. Хоча його застосування в більш легких випадках вимагає подальшого дослідження [123].

Схожі дані отримані для лікування періімплантиту і показують хороший ефект фотодинамічної терапії, крім того, вона не розвиває резистентність як через застосування антибіотиків [124].

Серед системних впливів центральне місце належить антибіотикотерапії. Про переваги для пацієнта від додаткового призначення антибіотикотерапії свідчать наступні дослідження. Позитивний ефект використання антибіотиків, як доповнення до нехірургічного лікування ПД, відзначено незалежно від антимікробних агентів, які використовувалися. Ділянки з PD > 6 мм можуть отримати найбільшу користь від додаткового використання антибіотиків [125].

Для пацієнтів із пародонтитом середнього та важкого ступеня додаткові системні антибіотики можуть мати більшу клінічну користь [126].

Антибіотики давно використовуються і все ще є цінним допоміжним засобом для ЗЗВ та навчання гігієни порожнини рота [127]. Найбільш широко використовувані системні антибіотики широкого спектру дії (наприклад, ципрофлоксацин, тетрациклін, амоксицилін з клавулановою кислотою або без неї, азитроміцин і доксициклін) діють переважно проти грамнегативних мікроорганізмів і облигатних анаеробів. Крім того, було показано, що та сама молекула антибіотика є більш ефективною з точки зору тривалості дії при системному застосуванні порівняно з місцевим застосуванням. Системні антибіотики мають більший ефект, ніж місцеві, які, з іншого боку, мають обмежену тривалість дії. Однак слід враховувати побічні ефекти та підвищену резистентність бактерій. Метронідазол має більш вузький спектр дії; зазвичай його призначають у комбінації з амоксициліном, і було виявлено, що ця комбінація може зменшити потребу в хірургічних операціях на пародонті та забезпечити тривалу стабільність решти пародонту, обмежуючи кількість залишкових кишень після початкової терапії [127]. Застосування цих системних антибіотиків було пов'язане з меншим прогресуванням захворювання протягом 6 місяців і до 2 років після одноразового курсу і, здається, має ефект навіть на поверхневих ділянках [128]. Кілька досліджень показали, що системні антибіотики дають кращі клінічні результати, якщо їх застосовувати відразу після механічної терапії, а не через 3-6 місяців після

ЗЗВ [129], і зазвичай рекомендовані дози становлять 250 мг метронідазолу та 500 мг амоксициліну тричі на день протягом 7 днів [130]. Застосування місцевих антибіотиків (наприклад, хлоргексидину глюконату, 10% доксицикліну гіклату, тетрацикліну гідрохлориду та міноцикліну гідрохлориду) може бути виправдано меншою кількістю побічних ефектів і, як видається, забезпечує додаткові переваги у зменшенні глибини зондування, оцінки нальоту, запалення та кровоточивості ясен, порівняно з лише ЗЗВ [131].

Мета-аналіз 30 рандомізованих контрольованих досліджень показав, що мінімально важливі клінічні відмінності спостерігалися після додаткового застосування сатранідазолу, метронідазолу та кліндаміцину для рівня посилення клінічного прикріплення та ймовірного зменшення глибини кишені. Для кровотечі при зменшенні зондування спостерігалися мінімально важливі клінічні відмінності після додаткового застосування метронідазолу та комбінації амоксициліну та метронідазолу. Проте оцінки мережі були підтверджені доказами з достовірністю від дуже низької до високої. Тому результати слід інтерпретувати з обережністю. Крім того, використання цих антибіотиків як доповнення до підясневої обробки слід зважити на можливу шкоду, щоб уникнути надмірного та неналежного використання цих антибіотиків у пацієнтів з пародонтитом [132].

Застосування протягом 7 днів кліндаміцину або амоксициліну/метронідазолу показало однакову ефективність щодо зменшення глибини зондування, зубного індексу та кровотечі при зондуванні у пацієнтів з пародонтитом і цукровим діабетом 2 типу [133]. В інших дослідженнях, системний амоксицилін-метронідазол, як було з'ясовано, виявився більш ефективним порівняно з кліндаміцином у пацієнтів з діабетом [134].

Рандомізовані дослідження, у яких порівнювали кроки локальної консервативної періотерапії у вигляді SRP та системні антибіотики на глікований гемоглобін (HbA1c) і зондування глибини кишені (PPD) у дорослих із ЦД2 та пародонтитом, аналізували за допомогою мережевого мета-аналізу та мета-регресії. Через 3 місяці після втручання мета-аналіз 16 досліджень виявив, що ЗЗВ і ЗЗВ плюс системні антибіотики мали однакові значні ефекти щодо зниження рівня

HbA1c на -0,72% і -0,96% відповідно. Хоча в обох групах відповідно, PPD зменшились на -0,67 і -0,89 мм, з антибіотиком показали краще зниження. Через 6 місяців після втручання мета-аналіз 7 досліджень виявив, що лише ЗЗВ було ефективним у зниженні рівня HbA1c (-0,29%), але не додаткове використання антибіотиків. Хоча як в обох випадках все ще значно знижувались PPD на -0,56 і -0,81 мм відповідно, різниці між ними не було. Поточний огляд свідчить про те, що пацієнтам із ЦД 2 типу та пародонтитом рекомендується рутинно лише ЗЗВ, оскільки системні антибіотики як ад'ювант забезпечують досить короточасний ефект [135]. Не дивлячись на те, що трьома роками раніше, доказів того, що допоміжна системна антибіотикотерапія покращує системні біомаркери запалення, у порівнянні з лише механічною обробкою зубів, у дорослих із ПД, все ще вважалося мало або взагалі немає [136].

Метронідазол і пеніцилін, як показано, були однаково ефективні для лікування непародонтальних стоматологічних інфекцій із системним ураженням. Метронідазол не забезпечує кращих клінічних результатів (окремо або в комбінації з β -лактамом) у порівнянні з β -лактамним антибіотиком окремо для лікування непародонтальних стоматологічних інфекцій у загальній стоматологічній практиці. Рекомендації повинні підкреслювати важливість хірургічних втручань і, якщо доцільно, використання одного препарату β -лактаму вузького спектру дії. Антибіотики слід призначати лише при явному системному ураженні та обмежуватися монотерапією β -лактамами в першу чергу [137].

Ще одне повідомлення підтверджує, що додаткове застосування системних протимікробних препаратів, особливо комбінації метронідазолу та амоксициліну, призводить до значного покращення глибини кишень, клінічного прикріплення та кровоточивості на 6 та 12 місяць після лікування [138]. Незважаючи на спостережувані сприятливі клінічні ефекти при застосуванні додаткових системних протимікробних препаратів, протилежним аргументом для додаткового використання антибіотиків є стійкість до ліків, яка є серйозною проблемою охорони здоров'я та соціально-економічною проблемою в усьому світі [139]. Таким чином, у клінічних практичних настановах EFP S3, створених для

підтримки клініцистів у прийнятті рішень щодо лікування періодонтиту I-III стадії, рутинне використання системних антибіотиків як доповнення до підясневої обробки не рекомендується. Однак їх допоміжне використання може розглядатися для окремих категорій пацієнтів, наприклад, генералізованого ПД III стадії у молодих людей [138].

Азитроміцин забезпечує додаткові покращення деяких клінічних параметрів (PD, CAL) при застосуванні в поєднанні з кроками локальної консервативної періотерапії (яка раніше відповідала терміну SRP, а згодом термін зазнав змін і звучить як «під'ясення професійне механічне усунення бляшки/нальоту, англ., professional mechanical plaque removal, PMPR) у пацієнтів з агресивним/швидкопрогресуючим ПД порівняно з контрольними групами. Ці поліпшення зберігаються протягом 12 місяців після завершення лікування. Хоча через відсутність добре спланованих досліджень висновки, які можна зробити з наявних доказів, обмежені [140].

Більш значне зменшення періодонтальної глибини було відзначено для лікування із додатковим призначенням азитроміцину [141]. Хоча є і конраверсійні висновки, що незважаючи на значні зміни в кількості *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* і *C. rectus*, пацієнти з ПД не мають користі від додаткового системного призначення азитроміцину з точки зору кількості персистуючих ділянок з $PD \geq 5$ мм і кровоточивістю [142].

Довготривалий курс азитроміцину для боротьби з біоплівковою інфекцією 500 мг/день 7 днів, і по 500 мг/тиждень наступні 3 тижні [143].

З цієї ж групи антибіотиків макролідів, кларитроміцин у поєднанні з субгінгівальним ЗЗВ може досягти чудових результатів у лікуванні хронічного ПД, як показав мета аналіз [144].

З огляду на прихильність пацієнтів і їх самопочуття, використання азитроміцину як доповнення до нехірургічної періодонтальної терапії може замінити амоксицилін і метронідазол. Однак інтерпретацію слід сприймати з обережністю, оскільки результати базуються лише на двох дослідженнях; таким чином, необхідні подальші клінічні випробування, щоб підкреслити або

спростувати цю тенденцію [145]. А подальші дослідження, зокрема, використання пробіотиків або азитроміцину як доповнення до ЗЗВ не забезпечило додаткових переваг у лікуванні ПД III стадії. Переваги цих двох режимів лікування як доповнення до ЗЗВ залишаються неясними. Очевидно ці додаткові препарати не діють на глибокі, залишкові кишені [146].

Таким чином, існують докази з дуже низьким рівнем достовірності (для тривалого спостереження), які інформують клініцистів і пацієнтів про те, чи можуть додаткові системні протимікробні препарати допомогти в нехірургічному лікуванні пародонтиту. Немає достатніх доказів, щоб вирішити, чи є деякі антибіотики кращими за інші при застосуванні разом із ЗЗВ. Жодне з досліджень не повідомляло про серйозні побічні ефекти, але пацієнтів слід поінформувати про поширені побічні ефекти, пов'язані з цими препаратами. Тобто мінімально важливу клінічну різницю для результатів закриття кишень, змін CAL, PD та BOP ще належить встановити [147].

Стосовно тривалості курсів прийому антибіотиків у пацієнтів із агресивним ПД (який швидко прогресує) (стадія III/IV, ступінь C) 3-денне системне застосування амоксициліну та метронідазолу як доповнення до SI може призвести до не гірших клінічних результатів через 6 місяців із меншою кількістю побічних ефектів порівняно з протоколом 7 днів [148].

Оскільки бактеріальний дисбактеріоз в основному є причиною ПД, антибіотики широко використовуються для лікування пародонтиту в клініках. Проте результати лікування антибіотиками ПД незадовільні [149].

Вцілому, для всіх випадків ПД антибіотики можуть певною мірою покращити стан пародонту хворих на ЦД із ПД. У клінічній практиці необхідно всебічно розглянути баланс користі та ризику, перш ніж приймати рішення про застосування антибіотиків [150].

Приблизно аналогічні дані поступово накопичуються для періімплантиту. Нехірургічна обробка зубів і підтримуюча періо терапія залишаються ключовими, а допоміжне використання антибіотиків при періімплантиті не може бути рутинно

рекомендованим, навіть враховуючи зростаючу стурбованість резистентністю до антибіотиків [151].

Пероральні антибіотики та антисептики, які доставляються місцево або системно, і були коротко розглянуті, загалом, ефективні у виборі «битви» проти ПД у короткостроковій перспективі, завдяки зменшенню його ознак і симптомів, але пацієнти, які отримують таке лікування, більш сприйнятливі до рецидиву ПД [152].

Додаткові показники, за якими вивчали ефект антибіотикотерапії при ПД включали чисельність запальних ДК і Treg-Th17, і виявили короткостроковий, корисний вплив по зменшенню запальних дендритних клітин і пластичності Treg-Th17 [153].

Підсумовуючи використання антимікробної терапії багато лікарських сумішей нездатні вбивати бактерії, що існують у вигляді біоплівки, через швидку зміну метаболічної активності клітин у попередньо сформованій біоплівці та структурну гетерогенність, що контролює проникнення препаратів [154].

З часів як механізми відповіді господаря були ідентифіковані як медіатори руйнування багатих колагеном тканин пародонту (ясен, періодонтальної зв'язки, альвеолярної кістки) при пародонтиті, з'явилася нова фармакологічна стратегія заснована на 2 основних висновках: (1) здатність антибіотиків тетрациклінового ряду пригнічувати руйнування пародонту була зумовлена (значною мірою) їхньою раніше невизнаною здатністю до пригнічення матриксних металопротеїназ хазяїна (зокрема, колагенази, желатинази, металоеластази макрофагів), за допомогою механізмів, не пов'язаних з антимікробними властивостями цих ліків; і (2) що нестероїдні протизапальні препарати, такі як флурбіпрофен, знову ж таки за допомогою неантимікробних механізмів, можуть зменшити тяжкість пародонтиту (однак несприятливі ефекти тривалої терапії перешкоджають їх впровадженню як безпечних і ефективних агентів, що модулюють організм). Додаткові дослідження механіки призвели до розробки нових неантимікробних препаратів (Periostat® [тепер генеричний] і Oracea®) і композицій тетрациклінів (зокрема, хімічно модифікованого тетрацикліну-3) як

препаратів-модуляторів для лікування пародонтиту, артриту, серцево-судинних і легеневих захворювань, раку, а нещодавно – для локальної та системної втрати кісткової маси у жінок у постменопаузі. Ідентифікація активного центру зв'язування катіонів у тетрафенольних хімічно модифікованих молекулах тетрацикліну спонукала до розробки нової категорії сполук-інгібіторів матричних металопротеїназ із подібним активним центром, біфенольних хімічно модифікованих куркумінів. Провідна сполука, хімічно модифікований куркумін 2.24, продемонструвала безпеку та ефективність *in vitro*, у клітинній культурі та *in vivo* на моделях захворювань мишей, щурів, кроликів і собак. Підсумовуючи, нові сполуки, що модулюють організм, показали значну перспективу як доповнення до традиційної місцевої терапії в клінічному лікуванні ПД, зменшують системні ускладнення цього надто поширеного «запального/колагенолітичного» захворювання; і Oracea® зараз зазвичай призначають при запальних дерматологічних захворюваннях [155].

Слід зазначити, що системний прийом доксицикліну, який використовується на додаток до ЗЗВ, не дає суттєвого покращення клінічних рівнів прикріплення для періодонтального статусу та зниження рівня HbA1c під час лікування діабетичних пацієнтів із ПД у порівнянні з контрольною групою [156].

З найбільш нещодавніх повідомлень, немає жодних доказів клінічно значущої користі від RMPR при терапії ПД в поєднанні з системним прийомом амоксициліну (250-500 мг) і метронідазолу (200-250 мг) порівняно з лише механічним ЗЗВ для лікування хронічного пародонтиту, як показує системний огляд [157].

Антибіотики залишаються цінним ресурсом; однак шлях доставки, а також поєднання з іншими методами, такими як фотодинамічна терапія або лазер, слід розглядати на індивідуальній основі, застосовуючи принцип персоналізованої медицини [158].

Підходи використання препаратів системного механізму дії на локальному рівні доставки, також можуть передбачати зменшення мікробного навантаження [159,160]. З метою антибактеріального впливу використовують нанотехнології,

зокрема наночастинки срібла [161,162]. Металеві наночастинки можуть бути використані як ефективні інгібітори росту різноманітних бактерій, що робить їх корисними для лікування пародонтиту [163].

Нещодавні розробки стосуються наноцерія. Наночастинки CeO_2 можуть діяти як поглиначі активних форм кисню (АФК) у запальному мікросередовищі з ідеальними результатами. Експерименти *in vitro* та *in vivo* надають переконливі докази ролі наночасточок CeO_2 у видаленні багатьох АФК і пригніченні індукованих АФК реакцій запалення, стимульованих ліпополісахаридами. Крім того, НЧ CeO_2 можуть інгібувати сигнальний шлях MAPK-NF κ B для придушення факторів запалення. Крім того, результати моделі пародонтиту щурів демонструють, що наночастинки CeO_2 можуть демонструвати чудову здатність послаблювати резорбцію альвеолярної кістки, знижувати активність остеокластів і запалення, і, отже, покращувати відновлення зруйнованих тканин. Дослідження підкреслює потенціал CeO_2 для застосування в лікуванні пародонтиту [164].

Наноцерій (в експерименті на щурах із ожирінням, індукованим глутаматом) при ентеральному введенні запобігає активації протеолітичних процесів, знижуючи катаболізм глікопротеїнів і протеогліканів тканин пародонта. При парентеральному введенні – запобігає активації протеолітичних процесів, значно знижує загальну протеолітичну активність та пригнічує активацію вільнорадикального окислення в тканинах пародонту щурів [165].

Дослідження впливу наночастинок оксиду церію на поведінку клітин і функцію стовбурових клітин періодонтальної зв'язки людини показали, що наночастинки CeO_2 не тільки мають хорошу біосумісність, але також сприяють проліферації клітин [166].

Отже, при лікуванні ПД, окрім антимікробного напрямку важливим є і пригнічення запальної і імунної відповіді, руйнівної для періодонту, як це продемонстровано, наприклад, для наноцерію та субклінгових концентрацій доксицикліну та НПЗЗ.

Певні рослини і їх екстракти такі як кориця, реалізують антимікробні властивості проти найпоширеніших мікроорганізмів, що викликають карієс зубів,

ендодонтичні та пародонтальні ураження, а також кандидоз, і розроблені для місцевого застосування [167].

Новим напрямком локальної доставки, серед інших матриць, плівок, гелів і подібних носіїв для пролонгованого вивільнення лікувальних речовин, є використання екзосом. Їх відкриття у 1987 році [168] стало великим проривом у розумінні того, як клітини спілкуються з іншими клітинами [169]. Екзосоми – це нанорозмірні позаклітинні везикули, що виділяються всіма клітинами. Екзосоми слини інтенсивно вивчаються на біомаркери ранніх захворювань [44]. Екзогенно створені екзосоми використовуються для різних терапевтичних застосувань [152, 170, 171]. Навантаження мелатоніном екзосом сприяє перепрограмуванню макрофагів в M2, які прискорюють регенерацію пародонтальної кістки у щурів із ПД, спричиненим лігуванням [172].

Одним з нових напрямків є таргетне лікування в медицині. Аналіз літератури показав можливості впливу на різні міРНК з метою їх врегулювання при можливих порушеннях. Так, нещодавно показано, що кверцетин (який давно відіграє важливу роль у лікуванні ПД через вплив на мікроРНК і регуляцію диференціації клітин Th17) зменшує запальну реакцію та сприяє відновленню альвеолярної кістки, що тісно пов'язане з пригніченням диференціації $CD4^+$ Т-клітин у клітини Th17 шляхом зниження регуляції miR-147-5p для сприяння активації C/EBP3 [173].

Інше дослідження показує, що наповнена кверцетином мезопориста наносистема доставки може бути терапевтичним підходом до реконструкції дефектів альвеолярної кістки при ПД. Крім того, він також пропонує нову перспективу для лікування дефектів альвеолярної кістки при ПД шляхом пригнічення експресії miR-21a-5p у макрофагах і, таким чином, створення сприятливого остеοімунного мікрооточення [174].

Окрім кверцетину, інші поліфеноли, які використовуються як харчові добавки, зокрема, ресвератрол, через їхні можливості модуляції міРНК, що показано на *in vitro* на клітинах людини, може бути корисним у комплексі лікування ПД [175], але не перевірено в клініці.

Таким чином, місцеве періодонтальне лікування, яке складається з 4х кроків є невід'ємним компонентом менеджменту ПД, але може бути модифіковане додатковими агентами з впливом по пригніченню локальної запальної деструкції періодонту і прилеглих тканин. Бажано щоб ці агенти міг призначати лікар-стоматолог обґрунтовано і з низьким рівнем небезпеки побічних несприятливих реакцій, тобто щоб позитивний ефект впевнено переважував можливі ризики. Певні медикаментозні речовини рослинного походження та/або БАДи добре відповідають цим вимогам.

Епідеміологічні дослідження показують, що споживання поліфенолів з їжею пов'язане зі зниженням захворюваності на деякі неінфекційні захворювання і ПД. Хоча деякі продукти містять складні суміші поліфенолів, на їхній вміст можуть впливати численні фактори. Окрім добре відомої здатності цих молекул діяти як антиоксиданти, вони здатні взаємодіяти з клітинними сигнальними шляхами, модулюючи експресію генів, впливаючи на активність факторів транскрипції та модулюючи міРНК [5,7,176,177].

Нові дослідження в онкології та нейробиології показують, що куркумін може впливати на міРНК та довгі некодувальні РНК (lncRNAs) [178]. Куркумін може регулювати miR-146a, що бере участь в імуносупресії, що відкриває новий механізм зменшення запалення при захворюваннях пародонту [179].

Кверцетин модулює експресію міРНК, пов'язаних із запаленням, апоптозом, антиоксидантним захистом та метаболізмом. Його вплив описаний у клітинних культурах, тваринних моделях і окремих клінічних дослідженнях [180,181].

EGCG - “ценутрацевтичний епігенетичний модулятор”, який знижує експресію про-запальних (miR-21, miR-155) та підвищує рівні протипухлинних/антиоксидантних (miR-34a, miR-16) [182]. На цій здатності засновані його протизапальні, антипроліферативні та судинопротекторні властивості.

Інші природні сполуки, такі як ізодрименінол, отриманий з рослини *Drimys winteri*, можуть запропонувати нові підходи до модуляції активності міРНК завдяки своїм протизапальним властивостям. Коли остеобластоподібні та мезенхімальні стромальні клітини, що походять з періодонтальної зв'язки обробляли ЛПС і далі

ізодрименінолом, це призводило до підвищення регуляції miR-146a-5p та miR-223-3p, і зниження регуляції miR-17-3p, miR-21-3p, miR-21-5p та miR-155-5p [183].

Але незважаючи на багатообіцяючі результати, отримані у дослідженнях на тваринах і у людей, загальна кількість доказів, що підтверджують позитивний вплив поліфенолів на стан пародонту (у сполученні з системними хворобами, зокрема з ЦД), залишається недостатньою [184].

Таким чином, огляд літератури обґрунтовує наступні підсумки.

Аналіз методів клінічних періодонтальних досліджень показав, що для клінічних досліджень і практичних лікарів періодонтограма є незамінною основою діагностики та диференційної діагностики при періодонтиті. Додаткові клінічні критерії такі як самооцінка стану пацієнтом корисні для об'єктивізації й порівняння статистичними методами. Діагностика і клінічні дослідження при пародонтиті вимагають дотримання сучасних клінічних критеріїв для міжнародного розуміння й визнання. Тому, періодонтальні глибинні вимірювання, індекс кровоточивості при пробі і індекси нальоту є необхідними рутинними клінічними результатами, а зміни їх значень між часовими періодами вимірювання слугують первинними і вторинними критеріями (primary or secondary outcomes).

Аналіз сучасного менеджменту пацієнтів з ПД показав розвиток місцевих технологій для зняття зубних відкладень і також місцевих антимікробних та антиоксидантних засобів і засобів їх доставки. Інші технології відновлення зубів і зубних рядів досягають високих рівнів і є невід'ємним компонентом активної періодонтальної терапії, але всі вони мають певні обмеження. Оскільки локальні або місцеві фактори, пов'язані з накопиченням біоплівки усуваються технічно і залежать від доступу до уражених ділянок зубів, рівня руйнування пародонту, вцілому зубо-щелепної системи та прихильності пацієнта до змін у способі життя, то такі системні фактори ризику як запальна та імунна відповідь на молекулярно-генетичному рівні, важче піддаються менеджменту стоматологом, мають широкий спектр порушень чи відхилень, і становлять привабливі мішені впливу, особливо враховуючи довготривалий, прогресуючий і поєднаний із системними запальними захворюваннями та станами, перебіг ПД.

Залучення ще недостатньо вивчених міРНК у механізми прогресування ПД є передбачуваним, а накопичення і систематизація даних про їх внесок у патогенез має важливе значення. Дослідження мікроРНК можуть покращити розуміння періодонтально-системних зв'язків.

Вивчення мікроРНК у періодонтальних тканинах та яснах при ПД, з метою подальшого впливу на них ліками, може становити перспективний підхід в оптимізації лікування, що допоможе б зменшувати запальну деструкцію.

Клінічні дослідження при ПД, які б вивчали вплив ліків на міРНК відсутні серед доступних джерел.

З метою впливу на комплекси міРНК, в огляді обґрунтовані певні поліфеноли рослинного походження, які відомі як біологічно-активні речовини з описаними антиоксидантними ефектами, і дозволені для застосування як харчові добавки.

Обґрунтовано важливість використання у дослідженнях додаткових вже відомих біомаркерів, що відображають тонкощі патогенезу та/або активності перебігу ПД, з новими критеріями, що може відкрити повніший спектр та вплив на клінічні прояви, для оптимізації лікування і прогнозу. Профіль експресії цитокінів у дослідженнях чітко продемонстровано як індикатор молекулярного рівня запалення, що дозволяє оцінити характер та ступінь активації імунних механізмів у тканинах пародонту.

Отже, базуючись на висновках з огляду літератури, проблематика дослідження визначається як важливість дослідження нових молекулярно-генетичних механізмів (міРНК) при ПД, у поєднанні з факторами, які підтверджують активність молекулярного запалення, і препаратів для лікувального впливу на ці механізми й фактори, з реєстрацією клінічних результатів.

Матеріали розділу опубліковано у нижче зазначених статтях:

Lazarieva, K., Skrypnykov, P., Shnaider, S., Udaltsova, K., Shynkevych, V., & Kaidashev, I. Detection of miRNA in chronic periodontitis clinical studies: a systematic review. *The Medical and Ecological Problems*. 2023; 27(5-6): 5-12. DOI <https://doi.org/10.31718/mep.2023.27.5-6.01>.

Лазарева, К. А., Скрипников, П. М., Кайдашев, І. П., Удальцова, К. О., & Шинкевич, В. І. Вибір методів діагностики при хронічному пародонтиті для клінічних досліджень: структурований огляд. *Клінічна Стоматологія*, 2024. № 3. С. 37–50. <https://doi.org/10.11603/2311-9624.2024.3.14977>.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Відбір пацієнтів. Критерії включення та виключення

47 пацієнтів з ПД 2-3/4 стадій та ступеня В (31 жінок та 16 чоловіків, 66% та 34% відповідно) віком 21-74 (середній вік 48 років) були відібрані з числа тих, що звертались на кафедру післядипломної освіти лікарів-стоматологів ПДМУ.

Усі включені пацієнти були ретельно проінформовані про характер та потенційні ризики та переваги їхньої участі в дослідженні та підписали інформованої згоду. Протокол дослідження був розглянутий та схвалений Комісією з питань біомедичної етики Полтавського державного медичного університету (Витяг з протоколу №207 від 23 серпня 2022 р.). Дослідження проводилося у повній відповідності до Гельсінської декларації 1975 року, переглянутої у 2013 році.

Підходи/формули для розрахунку розміру вибірки для дизайну парні вимірювання (до-після) з безперервним первинним результатом (наприклад, зміна глибини кишені в мм), що застосовують у пародонтологічних дослідженнях, докладно описані у літературі [185-187]. У дослідженнях використовують спеціальні програми [187], он-лайн калькулятори [188,189].

Розрахунок необхідного розміру вибірки було проведено за допомогою апріорного аналізу потужності для парного дизайну дослідження, у якому планувалося виявити різницю PPD у 1,0 мм ($\delta = 1,0$) для парного тесту (до/після): між базовим рівнем T1 та часовими точками T2 і T3. (Формули 2.1, 2.2 отримані з джерела [190]).

$\alpha = 0.05$ (двобічний тест),

потужність (power) = 80% $\rightarrow 1 - \beta = 0.80$,

попередня SD одинична: $\sigma = 1.0$ мм,

кореляція між парними вимірюваннями $r=0.5$.

(Значення $r = 0.5$ часто використовується як помірний очікуваний коефіцієнт кореляції між до/після вимірюваннями, якщо немає точних даних пілот-дослідження або літературних оцінок). Тим не менше, попередні розрахунки кореляцій Пірсона між даними періодонтальних глибин до/після лікування проведені раніше, де знайдені r становили від 0,44 ** для багато кореневих зубів до 0,69** (** $p<0.001$) – для однокорневих [191]. Тож середньо-арифметичне значення – 0,57, що наближено відповідає очікуваній кореляції між парними вимірюваннями PPD.

Перевіряючи стандартне відхилення різниць (σ_{diff}) для парних вимірювань, обчислення проводили за формулою 2.1:

$$\sigma_{\text{diff}} = \sigma \sqrt{2(1 - r)} \quad (2.1)$$

З підставними числами отримували:

$$\sigma_{\text{diff}} = 1.0 \cdot \sqrt{2(1 - 0.5)} = 1.0 \cdot \sqrt{2 \cdot 0.5} = 1.0 \cdot \sqrt{1} = 1.0.$$

Отже, $\sigma_{\text{diff}} = 1.0$ (як і в умові).

Для обчислення розміру вибірки (парний випадок, нормальне наближення) для середнього значення різниць скористались формулою:

$$n = \left(\frac{Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta}}{\delta / \sigma_{\text{diff}}} \right)^2 = \left(\frac{Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta}}{\delta} \cdot \sigma_{\text{diff}} \right)^2 \quad (2.2)$$

Значення Z :

- $Z_{1-\alpha/2}$ при $\alpha=0.05$ (двобічний) = 1.960,
- $Z_{1-\beta}$ при потужності = 0.80 $\rightarrow \beta = 0.20 \rightarrow Z_{0.80} \approx 0.842$ (часто беруть 0.8416).

Покрокове обчислення:

1. Сума Z : $1.960 + 0.842 = 2.802$
2. Квадрат суми: $2.802^2 = 2.802 \times 2.802$.
 - $2.802 \times 2 = 5.604$

- $2.802 \times 0.8 = 2.2416$
- $2.802 \times 0.002 = 0.005604$
- Сума = $5.604 + 2.2416 + 0.005604 = 7.851204 \approx 7.852$.

(якщо використовувати точніше $Z_{1-\beta} = 0.8416$, отримаємо

$$(1.960 + 0.8416)^2 = 2.8016^2 = 7.849)$$

3. Помножимо на $(\sigma_{\text{diff}}/\delta)^2$. У нас $\sigma_{\text{diff}} = 1.0$ і $\delta = 1.0$, тож цей множник = 1.

Отже: $n \approx 7.85 \rightarrow$ округлюємо в більшу сторону $\Rightarrow n = 8$. Необхідна кількість парних спостережень (пар) = 8. Тобто потрібно щонайменше 8 учасників з повними до/після вимірюваннями.

З урахуванням 30% запасу на втрати:

- $8/(1-0.30) = 8/0.7 = 80/7 \approx 11.428 \rightarrow 12$ учасників.

Завершена вибірка дослідження ($n=14$) перевищує ці цілі (навіть з урахуванням запланованого відсіву 30%), тому дослідження має достатню потужність для виявлення парної різниці PPD в 1,0 мм за зазначених припущень.

Зміни інших первинних і вторинних критеріїв прив'язували до первинного критерію.

У цьому дослідженні для створення 3х груп з різними протоколами лікування було включено 47 пацієнтів з ПД, а після всіх випадінь пацієнтів та рандомізації – 42, по 14 осіб у кожній групі: дві основні групи – перша та друга (з додатковим системним прийомом курсу EGCg та куркуміну), і одна – контрольна (в якій проводили тільки обов'язкове періодонтологічне лікування) (Рис. 2.1).

Критерії включення:

1) наявність пародонтиту, локалізованого або генералізованого 2-3/4 стадії, ступеня А або В (повільної та помірної швидкості прогресування) згідно класифікації 2017 року;

2) вік старше 21 року,

3) добрий загальний стан здоров'я; контрольовані або компенсовані системні захворювання;

4) не менше 15 зубів, що залишилися,

5) підписання письмової інформованої згоди на участь у дослідженні.

Критерії виключення:

- 1) ступінь С (швидко прогресуючий) ПД,
- 2) прийом антибіотиків або протизапальних препаратів протягом попередніх 3 місяців; прийом інших ліків на постійній основі, що може впливати на клінічні прояви пародонтиту,
- 3) періодонтальне втручання, лікування протягом попередніх 6 місяців;
- 4) вагітність, лактація;
- 5) наявність тяжких, неконтрольованих (декомпенсованих) захворювань внутрішніх органів або нервово-психічних розладів;
- 6) наявність інших умов, що могли б зумовити нездатність пацієнта усвідомити суть і можливі наслідки дослідження.

Під час T1 проводили комунікацію з пацієнтом, скринінг на наявність ПД, анкетування ОНІР-14, верифікували діагноз, підписували інформовану згоду, розпочинали та/або планували активну періодонтальну терапію. Розпочинали першу сесію професійного механічного зняття зубних відкладень. (Інколи професійні маніпуляції розпочинали на наступний день, який також вважався T1). Крім того, у T1 проводили видалення окремих безнадійних зубів та/або гінгівектомію в обмежених об'ємах задля біопсії. Біоптати слугували джерелом визначення міРНК і цитокінів.

Під час T2 проводили анкетування, оновлення записів періодонтограми, ревізію періодонтальних глибин. Проводили контроль вживання призначених харчових добавок (якщо такі призначали); за показаннями – підтримуючу або активну періодонтальну терапію. У T2 також проводили видалення окремих безнадійних зубів та/або гінгівектомію в обмежених об'ємах задля біопсії. Біоптати слугували джерелом визначення міРНК.

Під час T3 проводили анкетування, оновлення записів періодонтограми, ревізію періодонтальних глибин. За показаннями – підтримуючу періодонтальну терапію, (або розпочинали *de novo* активну періодонтальну терапію, також за показаннями, в залежності від даних обстеження). У T3 також проводили

видалення окремих безнадійних зубів та/або гінгівектомію задля біопсії. Біоптати слугували джерелом визначення міРНК та цитокинів.

Протягом всього періоду дослідження (і після його закінчення) пацієнти знаходяться на підтримуючій періодонтальній терапії і на зв'язку з лікарями-операторами.

Анкетування проводили за опитуванням «Вплив стану порожнини рота на якість життя» (ОНІР-14) [192] для об'єктивізації, на першому етапі, скарг. А в подальшому для порівняння набраних балів як істинного показника, який відображає реальне сприйняття пацієнтом стоматологічних утручань/лікування. Анкетування ОНІР-14 становило важливий аспект клінічного оцінювання і повторно проводилось у Т2, Т3 точках дослідження.

Опитувальник ОНІРQoL (oral health-related quality of life, тобто якість життя, пов'язана зі станом порожнини рота) був створений Слейдом у 1997 році [193] як скорочена версія опитувальника ОНІР-49 (розробленого Локером і Міллером у 1994 році) [194]. ОНІР загалом – це міжнародно визнаний інструмент, який широко адаптували різними мовами. Іспанська версія опитувальника ОНІР-14 була перевірена раніше [195]. Пункти цієї анкети оцінюються за 5-бальною шкалою від 0 (ніколи) до 4 (завжди) (Рис. 2.1). Вищі бали вказували на низьку якість життя, пов'язану зі здоров'ям порожнини рота. Опитувальник ОНІР версії 14 розділений на 7 областей: функціональні обмеження, фізичний біль, психологічний дискомфорт, фізичні вади, психологічні вади, соціальні вади та фізичні вади [192, 196].

Вплив стану порожнини рота на якість життя		
Чи маєте Ви будь-які проблеми чи відчуття пов'язані із станом чи проблемами із зубами, порожниною рота, протезами? Оцініть за 5-бальною шкалою від 0 (ніколи) до 4 (завжди) Можлива сума балів: 0-56		
Розділи	Ситуація	Бали
Функціональні обмеження	У вимові	
	Погіршене відчуття смаку	

Фізичний біль	Ниюча болісність (у роті, зубах)	
	Незручність при вживанні будь-якої їжі	
Психологічний дискомфорт	Відчуваєте сором'язливість	
	Почуваєтесь напруженим	
Фізичні порушення	Незадоволені своїм раціоном	
	Вимушені переривати прийом їжі	
Психологічні порушення	Важно розслабитися	
	Почуваєтесь трохи збентеженим	
Соціальні порушення	Дратують люди	
	Труднощі при виконанні звичайної роботи	
Фізичні вади	Життя загалом менш задовольняє	
	Загалом неможлива функція	
Сума балів:		

Рис. 2.1 Анкета ОНІР-14 для самооцінки пацієнтом.

Діагностичний та диференційно-діагностичний скринінг ПД проводили за допомогою визнаної методики скринінг-тесту (Periodontal Screening and Recording, PSR). (Система Periodontal Screening and Recording (PSR) була розроблена Американською академією пародонтології (AAP) у 1992–1993 рр. як модифікація індексу CPITN, що був представлений ВООЗ у 1982 році [197]). Стисло, для PSR періопробу виконували тим самим періодонтальним зондом, що згаданий для повного періообстеження, але перевіряли лише вестибулярні/ вестибуло-щічні поверхні періодонту зубів на предмет пошуку кишень 4-5 мм, виключаючи хибні кишень. При їх виявленні проводили повне періодонтальне обстеження.

Повне періодонтальне обстеження ротової порожнини проводилося на шести ділянках на кожен зуб за допомогою каліброваного періодонтального зонда. Глибина зондування та рівень ясен записували в міліметрах, переносили в онлайн

періочат. Періочат розраховував середні рівні PPD, CAL, BoP, індекс зубного нальоту.

Діагноз «пародонтит/періодонтит» встановлювали відповідно до Міжнародної класифікації захворювань пародонта та періімплантних тканин (World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions, 2017 [12]).

Підтвердження і уточнення діагнозу «пародонтит» здійснювалася на підставі клінічних та рентгенологічних даних. Згідно з критеріями, ПД діагностується у випадку наявності: клінічної втрати прикріплення (CAL) ≥ 1 мм у двох та більше не суміжних зубах; або наявності періодонтальної глибини (PD) ≥ 4 мм у комбінації з CAL на тих самих зубах; або радіологічно підтвердженої резорбції альвеолярної кістки/перетинок, що не може бути пояснена іншими причинами (наприклад, рецесією ясен травматичного походження, чи наслідком пришийкового карієсу).

Стадіювання (Stage I–III) та ступені (Grade A–B) визначалися на основі максимальної втрати прикріплення, відсотка резорбції кістки відносно кореня, швидкості прогресування.

Стисло, стадії I відповідала така клініка: CAL 1–2 мм; PPD ≤ 4 мм; втрата кістки до 15 % (корональна третина); відсутність втрат зубів з приводу ПД.

Стадії II: CAL 3–4 мм; втрата кістки 15–33 % (корональна третина); PPD ≤ 5 мм; відсутність втрат зубів.

Стадії III: CAL ≥ 5 мм; (явні інтерпроксимальні рецесії) втрата кістки до середньої третини кореня або більше; PPD ≥ 6 мм; втрата ≥ 4 зубів; можливі вертикальні дефекти, рухомість $\geq$ II ст., патологічна міграція.

Ортопанорамні та прицільні радіознімки використовували для діагностики як опосередковане свідчення швидкості прогресування пародонтиту, (не для повторного оцінювання втрати кістки).

Ступінь ПД визначали за опосередкованими ознаками: % максимальної втрати кістки (визначали як висоту втрати кістки (за рентгенограмою) у відношенні до довжини кореня $\times 100$), ділили на вік пацієнта. У дослідження були включені пацієнти зі ступенем B (середнє прогресування): % втрати кістки / вік = 0,25–1,0;

відсутні або помірні фактори ризику (куріння <10 сиг./день, HbA1c <7 %). (Grade C (швидке прогресування) виключали, як згадано вище.)

Якщо у пацієнта з ПД, який відповідав критеріям включення, принаймні одна ділянка мала $PD \geq 4$ мм або ≥ 6 мм та/або $CAL \geq 3$ мм або ≥ 5 мм, то йому привласнювали відповідний ступінь тяжкості ПД.

ПД вважався генералізованим, якщо було уражено >30 % зубів; локалізованим – до 30% включно.

Ступінь ураження пародонту розраховувалися з використанням заздалегідь визначених порогових значень, як детальніше описано далі, у підрозділі **2.7 Первинні і вторинні критерії дослідження**. Поширеність (порогових значень) визначається як частка учасників, у яких принаймні одна ділянка мала $PD \geq 4$ мм або ≥ 6 мм та/або $CAL \geq 3$ мм або ≥ 4 мм. Ступінь ураження визначається як співвідношення порогових значень уражених ділянок на одного учасника. Порогові значення $PD \geq 4$ мм та $CAL \geq 3$ мм зазвичай вважаються показниками клінічно значущого періодонтальної патології (гінгівіту, рецесії, чи ПД), тоді як $PD \geq 6$ мм та $CAL \geq 4$ мм відображають прогресуюче руйнування пародонту.

Клінічні періодонтальні вимірювання були впроваджені понад 50 років тому і продовжують функціонувати в якості базової моделі діагностики, та/або як сурогатні показники руйнування пародонту. Незважаючи на те, що їх відносять до характеристик, так званого, комплексу тканин «пародонту», насправді вони покликані оцінити стан пародонту: інтактна його довжина чи зменшена (рівень втрати прикріплення), і чи залучений він у запальну деструкцію, пов'язану з утворенням кишень. Серед цих параметрів: кровоточивість ясен при пробі (BoP), клінічна втрата прикріплення (clinical attachment level, CAL), періодонтальна глибина при пробі (periodontal probing depth, PPD), а також, ураження фуркацій, гнійна ексудація, рухомість, індекс тяжкості гінгівіту, рівень рецесії, ширина кератинизованих ясен, ступінь гіпертрофії (сосочку, маргінальної чи альвеолярної частини, РМА) та променева діагностика.

Кровоточивість ясен при пробі (bleeding on probing, BoP) найкраще відрізняє здоров'я або запалення ясенних тканин. BoP зазвичай вимірюється як

кровоточивість, спровокована притисканням зонда до дна борозни/кишені. Клінічні та гістологічні дані свідчать про те, що кровоточивість є більш ранньою ознакою гінгівіту, ніж візуальні ознаки запалення. Звісно, кровоточивість може викликатися травмою тканин зондом. Тож прикладений тиск має бути достатнім лише для того, щоб спровокувати кровотечу тканин, якщо є підвищена ламкість кровоносних судин внаслідок запалення. ВоР, спровокована тиском понад 0,25 Н або 25 г, призводить до хибнопозитивних показань [198]. Оскільки відсутність ВоР при 0,25 Н вказує на здоров'я пародонта з негативною прогностичною цінністю від 98% до 99%, цей клінічний параметр виглядає найбільш надійним для моніторингу пацієнтів у щоденній практиці протягом тривалого часу [199,200]. Некровоточиві ділянки можна вважати клінічно здоровими та періодонтально стабільними. [198].

ВоР є надійним показником запалення ясен, але не гарантовано корелює з активністю ПД, при цьому є провісником нестабільної кишені (або прогресування ПД) лише при глибині 4 мм і більше, і значенні (для всіх зубів) більше 16-23%, залежно від статусу паління, при палінні поріг менше [201].

Клінічно здоровий стан періодонту і кінцеві точки активного лікування – це події або результати, які можна об'єктивно виміряти, щоб визначити, чи є втручання, що вивчається, корисним [202]. У цьому контексті розрізняють істинні та сурогатні кінцеві точки лікування [33]. Сурогатні кінцеві точки мають клінічне значення, але можуть не надавати однозначних доказів того, що певне лікування приносить конкретну користь пацієнту, і включають зменшення PPD, зміни CAL, ознаки запалення ясен (наприклад, індекс Лоу) і ВоР, останні також мають клінічне значення і значення як показника системного запалення. (Для порівняння, істинні кінцеві точки відображають відчутну користь/задоволення для пацієнта, і включають втрату зубів, біль, жування, естетику, якість життя, пов'язану зі здоров'ям порожнини рота).

Отже, важливо що глибині періодонтальні вимірювання оцінюють руйнування, спричинене хворобою, а не наявність деструктивного хвороботворного процесу в тканинах пародонта за допомогою засобів, які зазвичай

використовуються для оцінки інших захворювань у медицині, таких як ідентифікація за допомогою біохімічних маркерів, ідентифікація відповідальних мікробів або ідентифікація за допомогою гістопатології [203].

Клінічна втрата прикріплення (рівень клінічного прикріплення періодонального чи епітеліального, або *clinical attachment level*, CAL) це відстань від цемента-емалевого сполучення до апікального рівня (глибини) періодонтальної зв'язки. Це вимірювання, яке вказує на те, скільки періодонту втрачено, і, отже, є критичним фактором, що визначає, чи має місце періодонтальне захворювання [198]). Зазвичай CAL використовується в клінічних дослідженнях для моніторингу ефективності різноманітних терапевтичних методів, які можуть або уповільнити прогресування періодонтальних захворювань, або забезпечити регенерацію втраченого прикріплення та опорних структур [204,205]. Внутрішні труднощі в точному оцінюванні CAL включають так звані, хибні кишені, і рецесії, при яких відбулася очевидна втрата прикріплення, але відсутнє збільшення періодонтальної глибини [206].

Незважаючи на труднощі, пов'язані з вимірюванням CAL, на даний момент це, здається, найкращий доступний засіб оцінки періодонту. Загальне стандартне відхилення цього вимірювання в >46 000 повторних вимірювань на ділянках періодонту у 58 пацієнтів становило 0,78 мм (діапазон від 0,4 до 1,2 мм). У періодонтально здорового суб'єкта довжина прикріплення, виміряна навколо 28 зубів, становить приблизно 700 мм. Таким чином, існує приблизно 1400 суміжних точок уздовж періодонтального прикріплення, де можна провести вимірювання за допомогою періодонтального зонда з діаметром робочої верхівки 0,5 мм. Важливо розуміти, що при записі періодонтограми, 6 вимірювань на зуб складає приблизно 12% можливих імовірних точок для вимірювання [207].

Глибина періодонтальної проби, PPD, вимірюється від ясенного краю до апікального рівня. Періодонтальний зонд залишається основним діагностичним інструментом і використовується для визначення CAL і PPD. Однак вимірювання, зафіксовані зондом, насправді є не фактичною глибиною кишені чи рівнем прикріплення, а лише відстанню від фіксованої контрольної точки до місця, де

верхівка зонда впирається в тканини. Це вимірювання залежатиме від тиску на інструмент, діаметру верхівки зонда, кута нахилу зонда, наявності під'ясених відкладень і, найголовніше, наявності або відсутності запалення в тканині періодонту. Таким чином, клінічні зміни CAL та PPD, зареєстровані під час лікування, можуть не відображати справжню зміну рівнів прикріплення волокна, а лише зміни глибини проникнення зонда в тканини, викликані зміною вищевказаних факторів [203].

Хоча здається інтуїтивно зрозумілим, що неглибокі кишені відповідають здоров'ю, а глибокі – захворюванню, є багато доказів того, що це не обов'язково так. Наприклад, глибокі кишені можуть залишатися стабільними і незапаленими, особливо якщо забезпечується ретельний підтримуючий період догляд, протягом дуже тривалих періодів часу [208,209]. Таким чином, глибокі кишені можуть існувати як так звані здорові кишені. Важливо визнати, що після успішного лікування ПД може рецидивувати на окремих ділянках, незважаючи на те, що більшість ділянок навколо зубів залишаються добре збереженими та у відносно здоровому стані [209]. Це було інтерпретовано як вказівку на те, що середні значення клінічних параметрів, таких як PPD, CAL та висота кістки, не є адекватними предикторами для сайтів, які можуть повторно інфікуватися та зазнати рецидиву захворювання [209]. Таким чином, PPD або CAL самі по собі не слід використовувати як доказ здоров'я або захворювання ясен. Їх необхідно розглядати в поєднанні з іншими важливими клінічними параметрами, такими як BoP, а також з модифікуючими факторами та факторами ризику. Це підкреслює, що найбільш корисним показником захворювання є клінічні ознаки запалення, і що дані анамнезу про захворювання (підвищення PPD, рецесія та CAL, втрата кісткової тканини) можуть бути менш доречними в контексті періодонтального здоров'я на редукованому періодонті [цит.по 198].

Характеристики періодонтального зонда є ключовими для визначення стану періодонта. Як продемонстровано, велика кількість літератури присвячена технічним і клінічним аспектам періодонтальних вимірювань, а розробка чутливих до тиску, контрольованих сил, автоматизованих і комп'ютерно керованих

зондів стала результатом великого інтересу до визначення взаємозв'язку між CAL і рівнем гістологічного прикріплення та зусиль звести до мінімуму варіабельність, пов'язану з глибинними вимірюваннями. Тим не менше, електронні зонди не забезпечують суттєво покращеної похибки вимірювання. Цей факт у поєднанні зі збільшенням часу та витрат, пов'язаних із використанням електронних зондів, дозволяє легко зрозуміти, чому мануальні зонди залишаються інструментом вибору в клінічній практиці [цит. по 210].

У контексті характеристик зонда та оцінки ВоР слід зазначити, що комерційно доступні зонди показали значну варіацію в розмірах (діаметр верхівки зонда та калібрування маркування), навіть в межах однієї виробничої партії, хоча доступна література свідчить про те, що варіабельність діаметра зонда зменшилася в останні роки. Тож, важливо використовувати стандартизовані періодонтальні зонди із стандартизованою силою зондування до 25 г, яку досить легко тренувати, використовуючи наприклад, кухонні ваги (Рис. 2.2) [211].



Рис.2.2 Тренування натиску на періодонтальний зонд.

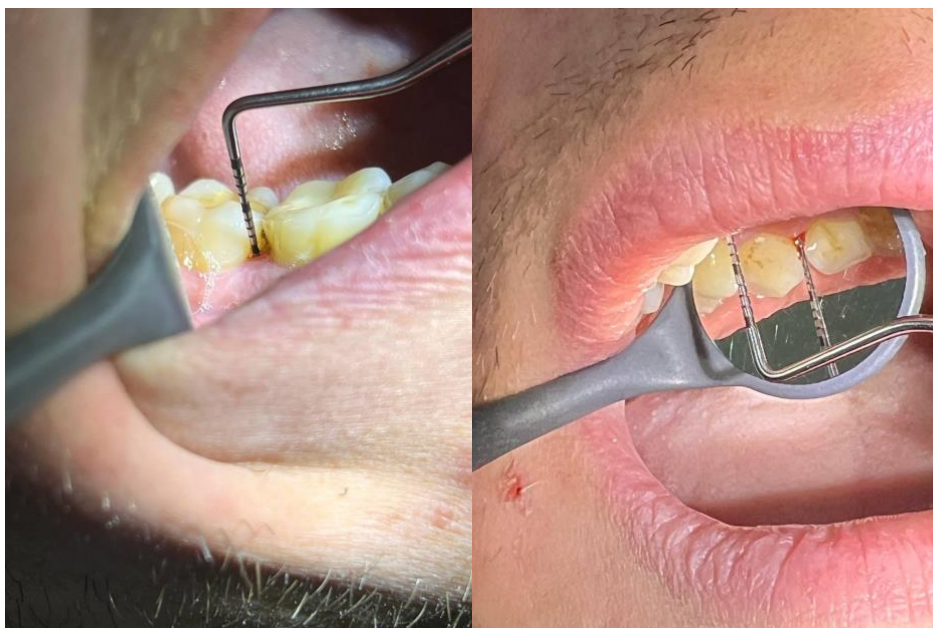


Рис. 2.3 Глибина періодонтального зондування = 4 мм.

Таким чином, періодонтальне глибинне вимірювання чи проба діагностує наявність запалення ясен, одночасно оцінюючи: рівень прикріплення, глибину розташування періодонту. Цей прийом дозволяє зібрати інформацію, необхідну для виявлення наявності як запалення ясен, так і втрати прикріплення (Рис. 2.3). У протилежність, оцінка кровоточивості ясен за допомогою інших індексів не включає оцінку CAL і, отже, не може вважатися вичерпною для остаточного діагнозу, тобто коли необхідно диференціювати гінгівіт і ПД [210].

Періодонтограма, яка включає вимірювання в шести ділянках на кожному зубі на 28 зубах, наразі вважається золотим стандартом клінічних обстежень.

2.2 Дизайн дослідження і протоколи лікування

Дизайн дослідження. Це дослідження було проведене як парне 6-місячне проспективне, відкрите для лікарів-дослідників і для пацієнтів, рандомізоване контрольоване клінічне дослідження з паралельним 3-гілковим дизайном. На рис. 2.4 наведено блок-схему дизайну дослідження.

Пацієнтів з ПД рандомізували на 3 групи стратифіковано, щоб врівноважити за: за віком, статтю, палінням, наявністю системних хвороб та ступенем

пародонтиту – всі пацієнти мали ступінь В, розрахований за непрямыми свідченнями про швидкість прогресування.

Як видно на блок схемі, проведено повторні клінічні вимірювання у трьох часових точках (базовий рівень – T1, T2 – 3 місяць, T3 -6й місяць). Окрім клінічних вимірювань, в усіх точках проводили також визначення експресії комплексу міРНК: 138-5p, 155-5p, 29b-3p, 142-3p та 27a-3p. У точках T1 і T3 проводили визначення рівнів цитокінів: ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-10 та TGF- β .

Протоколи лікування. Першим кроком лікувальних маніпуляції для всіх пацієнтів-учасників дослідження був інструктаж по змінам/оптимізації домашньої гігієни, що включав рекомендації використання зубної пасти Sensodyne Repaire (Haleon Levice, s.r.o., Словацька Республіка), інтердентальних засобів гігієни Interprox Plus 2G (Dentaid, Іспанія), а також мануальних чи звукових зубних щіток [212]. Інструктаж доповнювали дигіталізованою інструкцією у вигляді додатку інтернет-ресурсу розробки університету Берна Швейцарія [213]. Мотивацію пацієнтів проводили шляхом надання інформації про їх захворювання, періодонтит [214]. Інструктаж/корекцію домашньої гігієни та мотивацію повторювали всім пацієнтам у T2 і T3 точки дослідження.

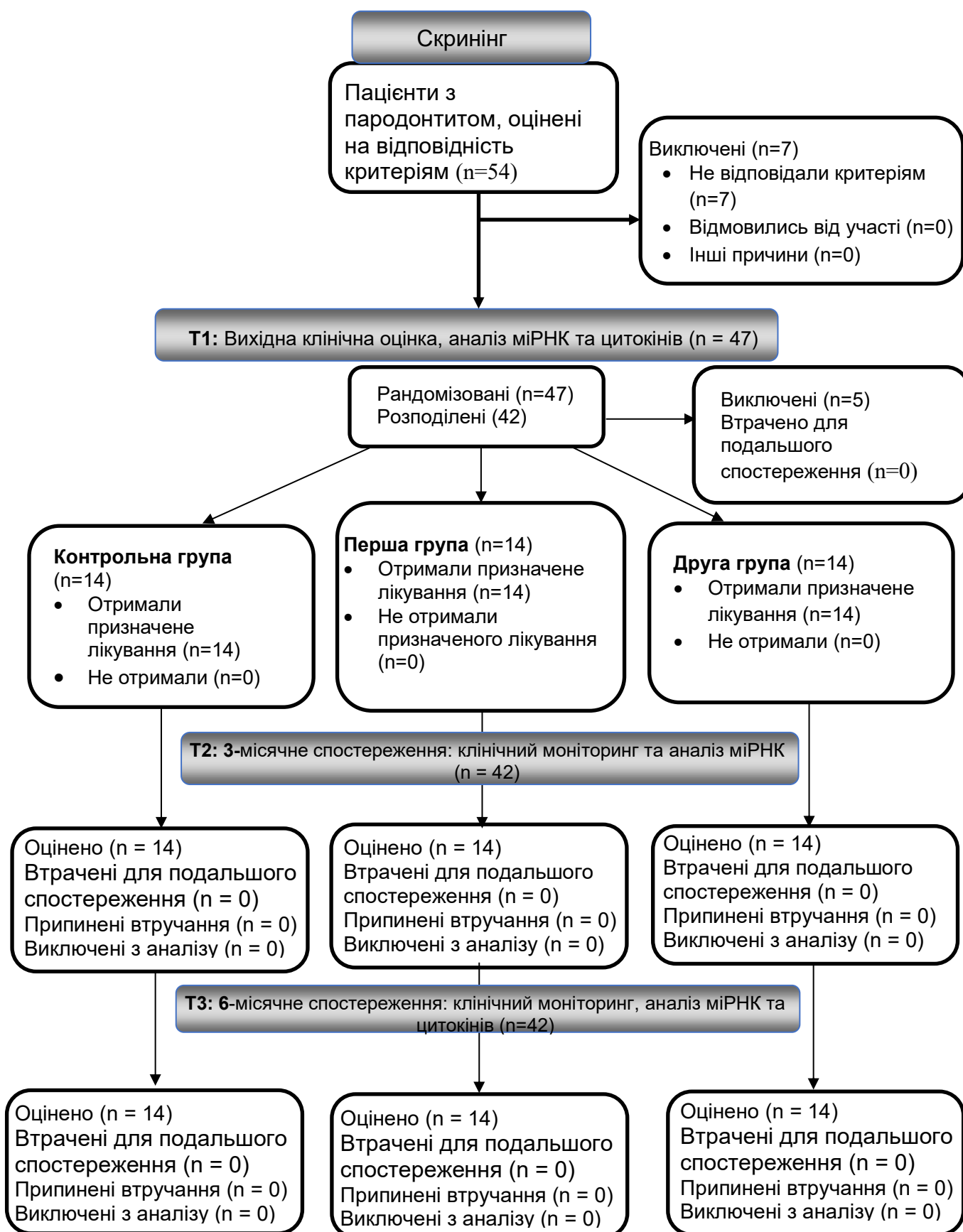


Рис. 2.4 Блок-схема дизайну дослідження.

Пацієнтам **контрольної групи** проводили тільки консервативне періодонтальне лікування у вигляді процедур професійного механічного зняття зубних відкладень (як повний (full-mouth) підхід, у 2 сесії, з інтервалом 1 доба) та інші заходи активного період лікування у вигляді корекції, реновації реставрацій прямих та непрямих, лікування карієсу та його ускладнень, некаріозних уражень твердих тканин зубів [212].

Пацієнтам **першої основної групи** проводили консервативне періодонтальне лікування як і в контрольній групі і додатково одночасно розпочинали двомісячний курс прийому екстракту зеленого чаю (або епігалокатехін галату) (Green Tea Extract EGCg, Now Foods, США) 400 мг по 1 капсулі на день – 60 днів. Контроль прийому капсул здійснювали під час Т2 візиту, перевіркою упаковки.

Пацієнтам **другої основної групи** проводили консервативне періодонтальне лікування як і в контрольній групі, і додатково одночасно розпочинали двомісячний курс прийому куркуміну (Turmeric Curcumin 1000 mg with Bioperine, Puritan's Pride, США) 1000 мг по 1 капсулі на день – 60 днів. Контроль прийому капсул здійснювали під час Т2 візиту, перевіркою упаковки.

Періодонтальне лікування проводили всім пацієнтам із застосуванням однакових заходів та засобів під час Т1, а також за показаннями – під час Т2 і Т3. Воно передбачало професійне механічне зняття зубних відкладень (ЗЗВ), яке виконували за допомогою вбудованого (в стоматустановку) ультразвукового скейлера DTE-V3, (Woodpecker, Китай) і насадок для над- (маркування G) і під'ясенної роботи (маркування PD). Для глибоких ділянок використовували кюрети Періо Грейс (Falcon, Пакистан). Для поліровки зубних поверхонь, включаючи інтерпроксимальні, використовували хендібластер/ содострумний наконечник Air Profy GD-SG01 (Dentix, Україна) з порошком на основі соди (BP CC-02 сода AIR-FLOW) (Ezmedix, Україна) – для над'ясенної поверхні, й на основі гліцину (BP CC-03 гліцин AIR-FLOW) (Ezmedix, Україна) – для поверхні оголених коренів.

(Порошок BP CC-02 призначений для найделікатнішої чистки поверхні зубної емалі повітряно-абразивним методом AIR FLOW (AIP флоу). Розмір фракції

20-25 μm . Твердість за шкалою Мооса 2.4. Використовується для видалення пігментації і м'якого нальоту з поверхні зубів. Порошок ВР СС-03 призначений для профілактичного чищення від біоплівки в дентальній профілактиці. Індекс порошку 03 відображає допуск до щоденного використання. Основний активний компонент – гліцин. Має округлу, менш тверду поверхню, ніж содові та кальцієві порошки.)

Після 33В додатково застосовували топічний агент для полоскання безпосередньо після зняття зубних відкладень (33В) – Лістерин (Listerine Zero, Johnson&Johnson, США) та аплікації/інстиляції гелю хлоргексидину 0.12 % у вигляді Perio-Aid Intensive Care (Dentaid, Іспанія).

Подальші заходи активного періодонтального лікування включали відновлення зруйнованих твердих тканин зубів, прямих та непрямих реставрацій для забезпечення безперешкодної домашньої гігієни.

2.3 Клінічний моніторинг пацієнта

2.3.1. Калібрування експертного лікаря-дослідника.

Дослідження виконували 2 треновані калібровані лікарі-оператори-дослідники. Сила періо зондування, 25 г, тренувалася на кухонних вагах.

Для калібрування експертів використовувався коефіцієнт Каппа, що перевищує або дорівнює 0,85. Було відібрано десять пацієнтів, у яких було щонайменше п'ять зубів з PPD та CAL ≥ 5 мм на проксимальних ділянках. Кожного пацієнта двічі обстежили мануальним діагностичним періо зондом DDI 10 s1-p3 TYPE 2 (з кроком шкали 2 мм та діаметром кінчика 0,05 мм) (Meddins, Україна) або пародонтальним експлорером PDI-10/3 з кроком шкали 1 мм та діаметром кінчика 0,05 мм (Meddins, Україна) інтервалом 48 годин між першим та другим обстеженнями.

2.3.2. Клінічні вимірювання.

Для всіх учасників було зафіксовано демографічні дані і медичну історію: стать та вік, наявні хронічні, алергічні хвороби, статус паління.

PPD, CAL, BoP та індекс нальоту визначали мануально у 6 сайтах навколо кожного зуба (інколи виключали треті моляри) і реєстрували первинно в періо карту пацієнта, потім переносили в періочат [211]. PPD та CAL вимірювалися з точністю до 1 мм. BoP реєструвалася на основі наявності або відсутності кровотечі після зондування. Наявність зубної бляшки також визначали дихотомічно. PPD вимірювалася від вільного ясенного краю до дна пародонтальної кишені. CAL вимірювалася від цементно-емалевого з'єднання до основи пародонтальної кишені. Всі зондувальні вимірювання виконувалися за допомогою мануальних періо зондів які зазначені при описі калібрування (Meddins, Україна). Ревізію кишень проводили за допомогою інструмента експлорера (Nova, Англія).

2.4 Відбір зразків ясен

У всіх пацієнтів під місцевою анестезією було отримано біоптати ясен, кожен розміром мінімум від 3×3 мм (в залежності від показань у пацієнта до гінгівектомії) до лікування та через 3 та 6 місяців. Біопсії отримували під місцевою анестезією, у приблизно однакові часові проміжки (± 5 днів) частіше з різних ділянок, які, тим не менш, характеризувались однаковими умовами: мали глибину при пробі 6 та більше мм, а також кровоточивість при зондуванні та зубні відкладення у прилеглій ділянці.

Основним клінічним показанням до гінгівектомії, як зазначено, були глибокі кишені з незворотньою втратою підлеглої кісткової тканини, а також видалення безнадійних зубів з періодонтальним ураженням, третіх молярів, і знов-таки, з відповідною глибиною при періодонтальній глибинній пробі.

В один візит виконували гінгівектомію, охоплюючи не більше 1 квадранта, частіше це було 2-3 сусідніх зуба. (Часом об'єми гінгівектомії за клінічними показаннями перебільшували необхідний об'єм для визначення експресії міРНК та цитокінів, тому етичні норми не були порушені).

Гінгівектомія та отримання тканинних біоптатів ясен не заважало, але навпаки, включалось у план лікування, та не впливало (було врівноважене) або покращувало очікувані клінічні результати.

Відразу після отримання, біоптати поміщували в транспортне середовище RNAProtect Tissue Reagent (Qiagen, Німеччина) для запобігання руйнування РНК.

Частина біоптатів була призначена для визначення цитокінів. Їх транспортували у стерильних умовах при температурі +4 °C у 1,5 мл модифікованого середовища Ігла за Дульбекко (DMEM), доповненого 10 % фетальної бичачої сироватки, 1 % пеніцилін–стрептоміцину та 0,2 % фунгізону амфотерицину В не більше 1,5 годин.

2.5 Визначення експресії міРНК

Визначення експресії міРНК проводили методом кількісної зворотнотранскриптазної полімеразної ланцюгової реакції (qRT-PCR) [215].

Тканину ясен транспортували в 1,5 мл транспортного середовища RNAProtect Tissue Reagent (Qiagen, Німеччина, cat No. 76106) протягом до 2 годин при кімнатній температурі (20–25 °C), або в охолоджену стані до НДІ ГІОРПФ, де виконували дослідження. РНК екструнували стандартним фенол-хлороформним методом.

30 мг зразка відділяли, якщо було потрібно, та гомогенізували за допомогою TissueLyser LT (Qiagen, Німеччина) та реагенту QIAzol Lysis Reagent (Qiagen, США, cat No. 79306) з додаванням металевих кульок (Stainless Steel Beads, 5 mm, Qiagen, Німеччина).

З гомогенізату екструнували загальну РНК за допомогою набору miRNeasy Mini Kit (Qiagen, Німеччина, cat. No. 217004), згідно з інструкціями виробника (набори miRNeasy дозволяють очищати загальну РНК, яка включає РНК (мікроРНК) приблизно від 18 нуклеотидів (нт) і вище).

Принцип методу: Після гомогенізації до лізату тканин ясен вносили хлороформ, після чого суміш центрифугували. РНК виділяли з водної фази суміші

шляхом осадження ізопропанолом, подальшого промивання етанолом та сушіння на повітрі, а потім розчиняли у воді, вільній від РНКаз. Якість та кількість екстрагованої РНК оцінювали за допомогою спектрофотометра NanoPhotometer NP-80 (IMPLEN, Німеччина), екстраговану РНК зберігали при температурі $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ до використання.

Проведення зворотної транскрипції виконували набором miRCURY LNA RT Kit (QIAGEN, США, cat.No.339340) згідно з інструкціями виробника.

Принцип методу: проведення реакції зворотної транскрипції синтеза первинної ланки ДНК на РНК-матриці з використанням рандомного гексамерного праймеру та зворотної транскриптази (РНК-залежна ДНК-полімераза, зворотна транскриптаза). За допомогою зворотної транскриптази до матриці РНК спочатку комплементарно приєднуються дезоксирибонуклеозидтрифосфати і синтезується ланцюг кДНК.

Використовували:

- 10x miRCURY Reverse Transcription Enzyme Mix - Оптимізована суміш ферменту зворотної транскрипції та Poly(A)-полімерази, розроблена для використання в двоетапній ПЛР у реальному часі;
- Зворотна транскриптаза HotStarRT-Script (модифікована форма рекомбінантної зворотної транскриптази 77 кДа);
- E.coli Poly(A) полімераза;
- 5x miRCURY RT SYBR® Green Reaction Buffer - Буфер, оптимізований для поліаденілювання та зворотної транскрипції; містить універсальний праймер зворотної транскрипції для роботи на основі SYBR®Green, Mg^{2+} , та дНТФ;
- 5x miRCURY RT Probe Reaction Buffer – буферний розчин, оптимізований для поліаденілювання та зворотної транскрипції; містить універсальний праймер зворотної транскрипції для робочого процесу на основі зондів, Mg^{2+} , та дНТФ;
- UniSp6 RNA Spike-in Template – синтетичний транскрипт для моніторингу успішної зворотної транскрипції.
- Nuclease-free water – вода надчистої якості, ПЛР-класу;
- Наближено 5 нг РНК.

Хід методики. Зворотну транскрипцію проводили використовуючи CFX96™ Real-Time PCR Detection system (Bio-Rad, США), інкубуючи реакційну суміш при температурі 40°C протягом 1 години, а потім проводили інактивуючий етап інкубації при 95°C протягом 5 хвилин.

Визначення експресії мікроРНК 138-5p, 155-5p, 29b-3p, 142-3p, 27a-3p проводили з використанням наборів індивідуальних праймерів для ПЛР miRNA – miRCURY LNA miRNA PCR Assays (QIAGEN, США), що забезпечують чутливе та специфічне кількісне визначення міРНК за допомогою LNA-оптимізованої ПЛР-міРНК на основі SYBR® Green - miRCURY LNA SYBR Green PCR Kit (QIAGEN, США, cat. no. 339345). Інформація щодо праймерів наведена в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Праймери, використані у методиці зворотної транскрипції з кількісною полімеразною ланцюговою реакцією

	hsa-miR-138-5p miRCURY LNA miRNA PCR Assay	hsa-miR-155-5p miRCURY LNA miRNA PCR Assay	hsa-miR-29b-3p miRCURY LNA miRNA PCR Assay	hsa-miR-142-3p miRCURY LNA miRNA PCR Assay	hsa-miR-27a-3p miRCURY LNA miRNA PCR Assay
Назва	hsa-miR-138-5p (YP00206078)	hsa-miR-155-5p (YP02119311)	hsa-miR-29b-3p (YP00204679)	hsa-miR-142-3p (YP00204291)	hsa-miR-27a-3p (YP00206038)
Вид організму	Людина (Homo sapiens)	Людина (Homo sapiens)	Людина (Homo sapiens)	Людина (Homo sapiens)	Людина (Homo sapiens)
Цілі (зріла miR)					
miRBase ID	hsa-miR-138-5p	hsa-miR-155-5p	hsa-miR-29b-3p	hsa-miR-142-3p	hsa-miR-27a-3p
Приєднання до miRBase	MIMAT0000430	MIMAT0000646	MIMAT0000100	MIMAT0000434	MIMAT0000084
Послідовність зрілої miRNA	AGCUGGUG UUGUGAAU CAGGCCG	UUA AUGCU AAUCGUGA UAGGGGUU	UAGCACCA UUUGAAAU CAGUGUU	UGUAGUGU UCCCUACU UUAUGGA	UUCACAGU GGCUAAGU UCCGC
Додаткова інформація (стовбурова петля(i) miRNA)					

miRBase ID	hsa-mir-138-1	hsa-mir-155	hsa-mir-29b-1	hsa-mir-142	hsa-mir-27a
Приєднання до miRBase	MI0000476	MI0000681	MI0000105	MI0000458	MI0000085
Опис	Homo sapiens miR-138-1 stem-loop	Homo sapiens miR-155 stem-loop	Homo sapiens miR-29b-1 stem-loop	Homo sapiens miR-142 stem-loop	Homo sapiens miR-27a stem-loop
Послідовність miRNA (pre-miR)	CCCUGGCA UGGUGUGG UGGGGCAG CUGGUGUU GUGAAUCA GGCCGUUG CCAAUCAG AGAACGGC UACUUCAC AACACCAG GGCCACAC CACACUAC AGG	CUGUUAU GCUAAUCG UGAUAGGG GUUUUUGC CUCCAACU GACUCCUA CAUAUUAG CAUUAACA G	CUUCAGGA AGCUGGUU UCAUAUGG UGGUUUAG AUUUAAA AGUGAUUG UCUAGCAC CAUUUGAA AUCAGUGU UCUUGGGG G	GACAGUGC AGUCACCC AUAAAGUA GAAAGCAC UACUAACA GCACUGGA GGGUGUAG UGUUUCCU ACUUUAUG GAUGAGUG UACUGUG	CUGAGGAG CAGGGCUU AGCUGCUU GUGAGCAG GGUCCACA CCAAGUCG UGUUCACA GUGGCUAA GUUCCGCC CCCCAG

LNA, Locked Nucleic Acid – це модифікований нуклеотид, у якому структура рибози «замкнена» додатковим містком між 2'-O і 4'-C атомами. Ця структурна фіксація робить зонд або праймер більш стабільним та забезпечує значно вищу спорідненість до комплементарної мішені (підвищує температуру плавлення, T_m). Оптимізована таким чином qRT-PCR дозволяє точно та надійно кількісно визначати окремі мікроРНК з дуже малих кількостей (навіть з 1 пг) загальної РНК, в свою чергу праймери, посилені LNA, дозволяють диференціювати мішені при 1 нуклеотиді відмінності.

Детекцію продуктів ПЛР проводили з використанням системи детекції в режимі реального часу CFX96™ Real-Time PCR Detection system (Bio-Rad, США), в реакційній суміші (окремій для кожної з міРНК, що визначалися):

2x miRCURY SYBR® Green Master Mix, який складається з:

- ДНК-полімераза QuantiNova – модифікована форма рекомбінантної ДНК-полімерази 94 кДа, спочатку виділеної з *Thermus aquaticus*. ДНК-полімераза

QuantiNova постачається в неактивному стані та не має ферментативної активності за кімнатної температури. Фермент активується шляхом 2-хвилинної інкубації при температурі 95°C.

- miRCURY SYBR®Green ПЛР-буфер – містить Tris·HCl, KCl, NH₄SO₄, MgCl₂ та добавки, включаючи Q-Bond®.
- dNTP mix – містить dATP, dCTP, dGTP, і dTTP надчистої якості.
- Набір індивідуальних праймерів для ПЛР miRNA.
- кДНК після етапу зворотної транскрипції (≈20 нг кДНК-еквіваленту загальної РНК з кожного зразка).
- Вода без РНКаз та ДНКаз.

ПЛР проводили за наступних умов: перший цикл – 95 °C – 120 сек та наступні 40 циклів: 95 °C - 10 сек; 56 °C - 60 сек. Дані були проаналізовані та отримані значення C_T. (C_T (threshold cycle) – кількість циклів ампліфікації, після яких флуоресцентний сигнал перевищує порогове значення. Чим нижче C_T, тим більше цільової нуклеїнової кислоти було у зразку на початку. Δ C_T – різниця між C_T цільової міРНК і C_T контрольного гена в одному й тому ж зразку. Потім дані були проаналізовані за допомогою стандартного методу ΔΔ C_T, розробленого Vandesompele et al. (2002) [215].

(Метод ΔΔC_T перетворює різницю циклів у відносну кількість (з урахуванням того, що кожен цикл ПЛР у ідеальних умовах подвоює кількість продукту). Це один з варіантів відносного кількісного аналізу у qPCR, який дозволяє оцінити рівень експресії цільового гена (або міРНК) у порівнянні з ендегенним контрольним геном (housekeeping gene, використовували UniSP6 (лабораторний контрольний синтетичний РНК-шаблон для калібрування та перевірки точності qPCR). В якості референтного гену використовували ген UniSP6 (QIAGEN, USA, GeneGlobe ID: YP00203954, Cat. No.: 339306). Розрахунок проводився за допомогою програмного забезпечення «Bio-Rad CFX Manager Software». Відповідно, результати виражено у відносних одиницях (relative units, RU) які відображають відносний рівень експресії цільової молекули, нормалізовані до рівня контрольного гену.)

2.6 Визначення експресії цитокінів

Частина біопсії була призначена для визначення цитокінів: IL-1 β , IL-6, IL-10 та TGF- β . Ці зразки після отримання, як описано вище, транспортували окремо, у стерильних умовах в епендорфах, при температурі +4 °C у 1,5 мл модифікованого середовища Ігла за Дульбекко (DMEM), доповненого 10 % фетальної бичачої сироватки, 1 % пеніцилін–стрептоміцину та 0,2 % фунгізону амфотерицину В. Час між відбором та доставкою до лабораторії не перевищував 2 годин.

Після доставки біоптати негайно розміщували в умови інкубації (37 °C, 5 % CO₂) для 48-годинного культивування. Біоптати розміщували у окремі лунки планшетів Costar® 24-well Plates (Corning Life Sciences, Kennebunk, США), кожна з яких містила 0,4 мл середовища Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, модифіковане середовище Ігла за Дульбекко»), доповненого 10 % (об./об.) фетальної бичачої сироватки (Fetal Bovine Serum, Thermo Fisher Scientific, Gibco™, США), 1 % (об./об.) пеніцилін–стрептоміцину (Gibco™, США) та 0,2 % (об./об.) фунгізону амфотерицину В (Gibco™, США). Культивування тривало 48 годин [216].

Після інкубації тканини видаляли, а культуральне середовище центрифугували при 800 g та температурі +4 °C.

Концентрації IL-1 β , IL-6, IL-10 та TGF- β у надосадовій рідині визначали методом ІФА з використанням наборів MyBioSource (Сан-Дієго, США) відповідно до інструкцій виробника. Результати концентрацій цитокінів виражали у одиницях, рекомендованих виробником.

2.7 Первинні і вторинні критерії дослідження

Первинні критерії (outcomes) дослідження: Зміни PPD на 3й та 6й місяці, а також, відповідно, пропорцій порогових значень.

Вторинними критеріями (outcomes) дослідження були зміни пропорцій порогових значень CAL, VoP, індексу нальоту, бали набрані опитуванням OHIP-14. Одиницею дослідження був пацієнт. Також вторинними критеріями були зміни

середніх рівнів панелі міРНК (miR-138-5p, miR-155-5p, miR-29b-3p, miR-142-3p та miR-27a-3p) та ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-10 й TGF- β .

З даних періодонтограми розраховували: PPD 1-3 /4-5 $\geq$ 6 мм для подальшого порівняння долі сайтів помірної глибини 4-5мм, по відношенню до всіх інших глибин; долі сайтів $\geq$ 6 мм глибини по відношенню до всіх інших глибин; і відсотки закриття кишень – відношення приросту сайтів PPD 1-3 мм у точках дослідження T2, T3, до початкових кількостей уражених ділянок (PPD 4-5 мм + $\geq$ 6 мм вихідні дані для кожної групи).

Також з даних періодонтограми розраховували співвідношення CAL $\geq$ 3/ $\geq$ 4мм, BoP +/-, Наліт +/-, та співвідношення набраних балів до можливих в анкеті OHIP-14.

Така презентація клінічних результатів, у вигляді пропорцій порогових значень, при ПД рекомендується сучасними дослідженнями [217].

Нуль гіпотеза, яка перевірялась у дослідженні: що додатковий системний курс EGCG чи куркуміну при лікуванні ПД не призводить до змін клінічних показників, експресії в яснах міРНК, чи цитокінів.

(Нуль-гіпотеза СКАСОВУЄТЬСЯ, якщо:

- є статистично значущі клінічні зміни PPD;
- є узгоджені молекулярні зміни miRNA;
- є протизапальні зміни цитокінового профілю;
- ефект спостерігається на 3-му та/або 6-му місяці;
- всі ці показники відповідають заздалегідь визначеному р-критерію).

2.8 Статистичний аналіз

Використання статистичних методів залежить від поставлених завдань. Зокрема при порівнянні і усередненні пропорцій та/або співвідношень, які часто виражають у відсотках, було використано хі-квадрат або тест Фішера. Оцінка пропорцій кишень та співвідношення втрати прикріплення з різним порогом відповідає сьогоденним знанням про закономірності «закриття кишень» [218-221].

Для аналізу й побудови графіків використано програму Prism 9 software (GraphPad Software, Сан Дієго, США) для описової статистики, тест на нормальність розподілу, гістограми, середні, стандартні відхилення, стандартні помилки, медіани, процентилі, відповідно до характеру розподілу у варіаційних рядах.

Для оцінки впливу ступеня залучення фуркації на PPD, CAL та BoP використано статистичний метод лінійної регресії.

Для встановлення взаємозв'язків використано кореляційний непараметричний аналіз Спірмена та регресійний аналіз.

Порівняння між групами проводили методами ANOVA враховуючи залежні і незалежні варіаційні ряди, особливості розподілу. Для порівняння пропорцій використовували метод хі-квадрат у варіаціях R×C або 2×2 table.

Значення $p < 0,05$ вважали достовірними в усіх тестах.

Для аналізу змін глибин (PPD, CAL) використовувався тест χ^2 . Хоча PPD є неперервним показником, для тесту χ^2 дані були категоризовані (наприклад, « ≤ 4 мм» проти « > 4 мм»), що дозволяє порівнювати частоту пацієнтів із різною глибиною PPD між групами. Використання категоризації було обґрунтоване цільовим дизайном дослідження: розмір вибірки був розрахований на виявлення клінічно значущої зміни PPD на 1 мм. Тест χ^2 дозволяє оцінити, чи частка пацієнтів із певною категорією PPD відрізняється між групами, не потребуючи нормального розподілу даних. Таким чином, він забезпечує статистично коректну оцінку ефективності лікування у термінах частот клінічно значущих змін.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.

ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ПАРОДОНТИТ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ЕПІГАЛОКАТЕХІН ГАЛАТУ АБО КУРКУМІНУ

3.1 Вивчення експресії комплексів міРНК тканин пародонту та їх зв'язку з клінічними показниками при пародонтиті

3.1.1. Експресія комплексу міРНК при пародонтиті. Значення рівнів міРНК визначали у відносних одиницях без абсолютного калібрування, і вони відображали відносний рівень експресії цільової молекули міРНК, нормалізований до рівня контрольного гена UniSP6, як це детально описано у Розділі 2.

Отримані значення мали високу варіабельність, непараметричний розподіл, що підтверджено результатами описової статистики, та тестом на нормальність розподілу. Дані по розподілу кожної з досліджених міРНК узагальнено і подано як медіани, процентилі (на які не впливають екстремальні значення), а також середні, їх стандартні відхилення (SD) та їх стандартні помилки (SE) (табл. 3.1).

Детальний аналіз розподілу рівнів експресії мікроРНК у тканинах ясен показав наступне. Для візуалізації розподілу кількісних рівнів експресії п'яти мікроРНК (miR-138-5p, miR-155-5p, miR-29b-3p, miR-142-3p та miR-27a-3p) у зразках тканин пацієнтів з ПД було побудовано гістограми ($n = 47$ для кожної міРНК) (Рис. 3.1).

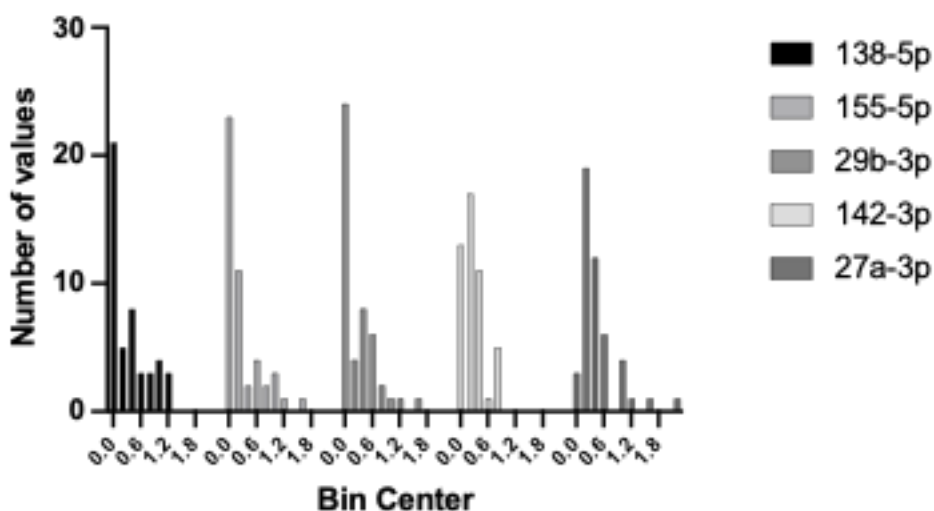


Рис. 3.1 Описова статистика відносних кількісних показників експресії міРНК. Розподіл частот.

Примітка: Number of values – кількість значень; bin center – центр інтервалу.

Характеристики розподілу для кожної мікроРНК наведено нижче.

miR-138-5p: Розподіл значень мав позитивну (правобічну) асиметрію. Більшість значень зосереджено нижче медіани (0,2241), тоді як поодинокі високі значення досягали максимуму 1,1629. Середнє значення (0,3428) перевищувало медіану, що свідчить про наявність асиметрії. Стандартне відхилення (0,3868) вказує на високу варіабельність.

miR-155-5p: Подібно до попередньої, ця мікроРНК демонструвала позитивну асиметрію з розкидом значень від 0,00024 до 1,54286. Середнє (0,2712) перевищувало медіану (0,1177), а стандартне відхилення становило 0,3850, що свідчить про виражену міжіндивідуальну варіабельність. Та, знов таки, поодинокі/меншість високих значень.

miR-29b-3p: Гістограма засвідчила правобічну асиметрію розподілу, більшість значень зосереджені нижче третього квартиля (0,4995). Середнє значення (0,2700) перевищувало медіану (0,0988), а максимальне значення (1,54285) сприяло подовженню правого "хвоста".

miR-142-3p: Розподіл цієї мікроРНК був відносно симетричним, хоча простежувалась слабка позитивна асиметрія. Середнє (0,2641) лише трохи перевищувало медіану (0,1830). Менше стандартне відхилення (0,2359) свідчить про більш стабільний рівень експресії.

miR-27a-3p: Серед досліджуваних мікроРНК ця мала найширший діапазон значень (від 0,06122 до 2,26577) і найвище стандартне відхилення (0,4272). Гістограма продемонструвала виражену позитивну асиметрію, середнє значення (0,4646) значно перевищувало медіану (0,3536), що вказує на вплив окремих високих значень.

У всіх випадках було використано по 47 значень без виключень; усі значення були розподілені по інтервалах для оцінки форми розподілу та ступеня варіабельності. Практично всі розподіли мали правобічну асиметрію з меншістю високих значень що відповідає логнормальному розподілу, як показано далі.

Результати досліджень рівнів експресії міРНК у вигляді статистичних розрахованих показників наведені у таблиці 3.1, а для наочності і візуального

порівняння медіани, середнього рівня та індивідуальних значень – на графіках Рис. 3.2.

Таблиця 3.1

Результати досліджень рівнів експресії міРНК в яснах при пародонтиті

n=47 (до розподілу на групи дослідження)	miR138-5p	miR-155-5p	miR-142-3p	27a-3p	29b-3p
М ± SD	0,343± 0,387	0,271± 0,385	0,264± 0,236	0,465± 0,427	0,270± 0,349
SE	0,0564	0,0562	0,0344	0,0623	0,0509
Медіана	0,224	0,118	0,183	0,354	0,0988
Діапазони процентилів {P10 – P90} 80%	{0,001– 0,987}	{0,001– 0,979}	{0,038 – 0,803}	{0,124– 1,06}	{0,002– 0,741}
Коефіцієнт варіації	113%	142%	129%	89%	92%

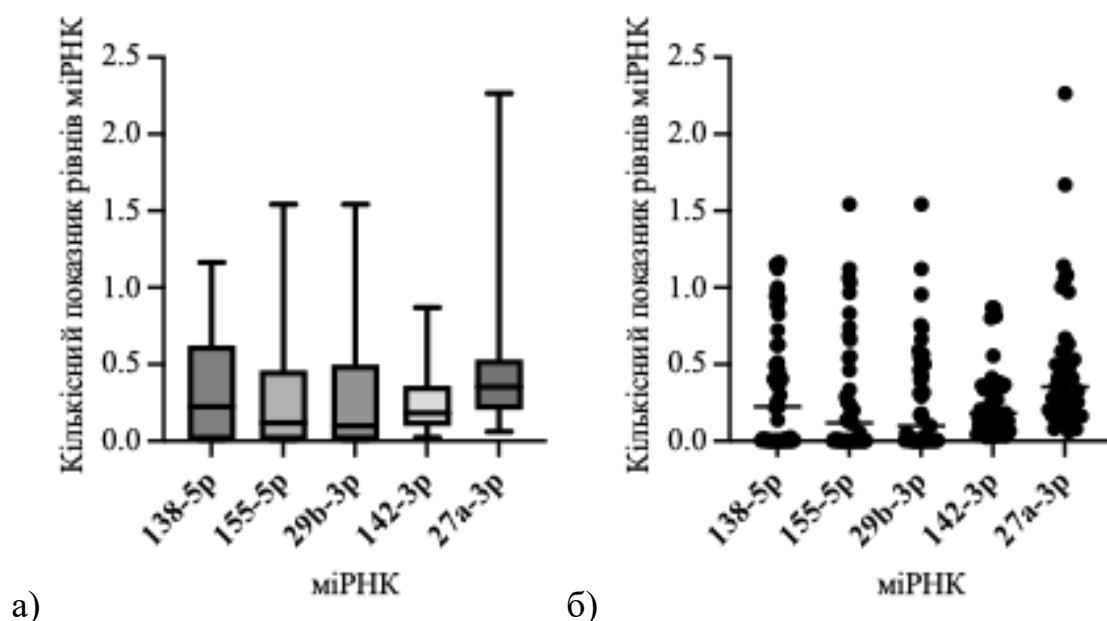


Рис. 3.2 Експресія досліджуваної панелі міРНК в яснах при пародонтиті:

а) бокс-графік відображає інтерквартильні регіони, в які потрапляє від 25% до 75% значень вибірки (IQR); «вуса» відображають мінімальні та максимальні значення;

б) графік індивідуальних показників експресії міРНК демонструє екстремальні значення (outliers) і дає відчуття n-кількості вибірки.

Тестування з метою перевірки відповідності нормальному або логнормальному розподілу методами D'Agostino & Pearson, Anderson-Darling та Shapiro-Wilk показало, що кількісні показники експресії міРНК142-3p і 27a-3p у пацієнтів з ПД (до втручання з метою лікування) відповідали логнормальному розподілу (Рис. 3.3, 3.4).

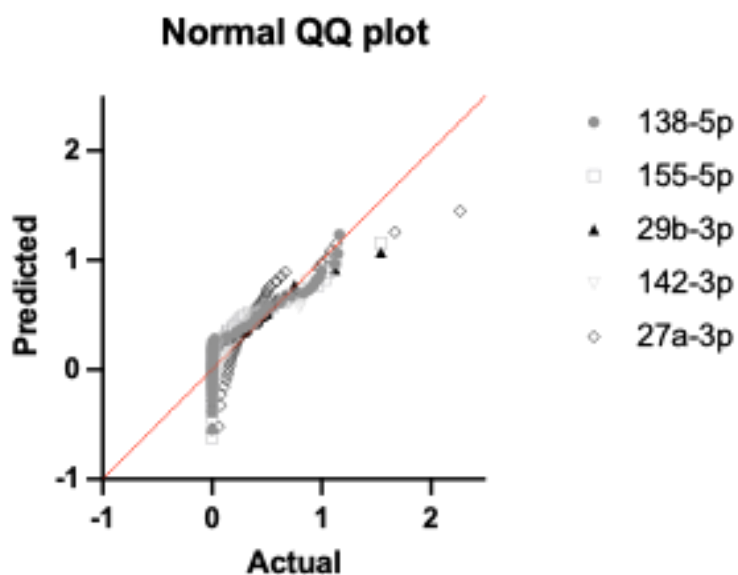


Рис. 3.3 Q-Q (квантиль-квантильний) графік, який демонструє розподіл даних наближений до нормального (гаусового) для кількісних показників міРНК 138-5p, 155-5p та 29b-3p.

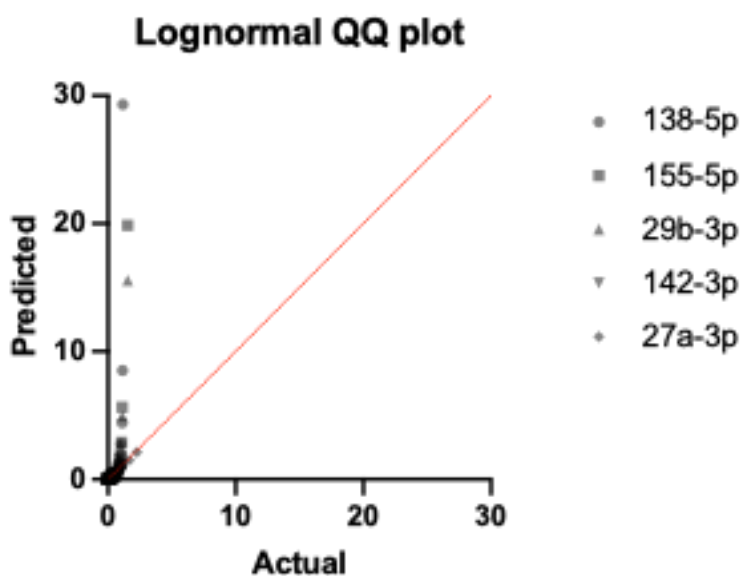


Рис. 3.4 Q-Q (квантиль-квантильний) графік демонструє розподіл даних наближений до логнормального кількісних показників міРНК 142-3p і 27a-3p.

Для подальшого аналізу було використано непараметричні методи порівняння даних.

3.1.2. Клінічні дані пацієнтів з пародонтитом. До стратифікованої рандомізації, весь масив даних пацієнтів, включених у дослідження (n=47), було оцінено.

Демографічні дані і медична історія.

Вік пацієнтів склав від 22 до 73, середній 47 років.

Стать пацієнтів: 31 – жіночої статі і 16 – чоловічої (більшість – жінки, 66%).

У дослідженні реєстрували супутні хвороби пацієнтів та паління, але не обраховували статистично їх вплив на зміни пародонтальних індексів: ангіотрофоневроз – 1 випадок; остеопороз, поліартрит – 1; хронічна запальна демієлінізувальна полінейропатія – 1; бронхіальна астма (яка контролюється) – 1; хронічний тонзиліт – 1; діабет 2 типу – 3; дискінезія жовчних протоків, хронічний гастродуоденіт – 1; метаболічний синдром, ожиріння – 1; ішемічна хвороба серця – 2; гіпертензія – 4; гастрит хронічний – 1; псоріаз – 1; меланома (в анамнезі), лімфостаз -1; хронічний панкреатит - 1; сечокам'яна хвороба – 1; стан після поранення в обличчя, ураження лівого ока, рогівки правого – 1; нефректомія (з приводу доброякісного онкозахворювання) – 1; хронічний безкам'яневий холецистит – 2. Всі захворювання були компенсованими або субкомпенсованими. Паління – 6.

Інші пацієнти не мали діагностованих системних захворювань чи станів.

Періодонтальний статус характеризувався наступними узагальненими клінічними даними. ПД діагностовано як II-III/IV стадії, помірного/середнього (B) ступенів прогресування, на основі непрямих свідчень про швидкість прогресування. У всіх пацієнтів ПД оцінено як активний перебіг/загострення чи нестабільні кишень на основі наявності кровоточивості в кишнях глибиною 4 мм і більше.

В роботі перевірено та підтверджено вплив залучення фуркацій на глибину пародонтальних кишень та клінічної втрати прикріплення на тяжкість ПД.

Оцінка впливу числа зубів із ураженням фуркації на PPD, CAL та BoP проведена методом лінійної регресії. Результати наведено на графіку Рис. 3.5.

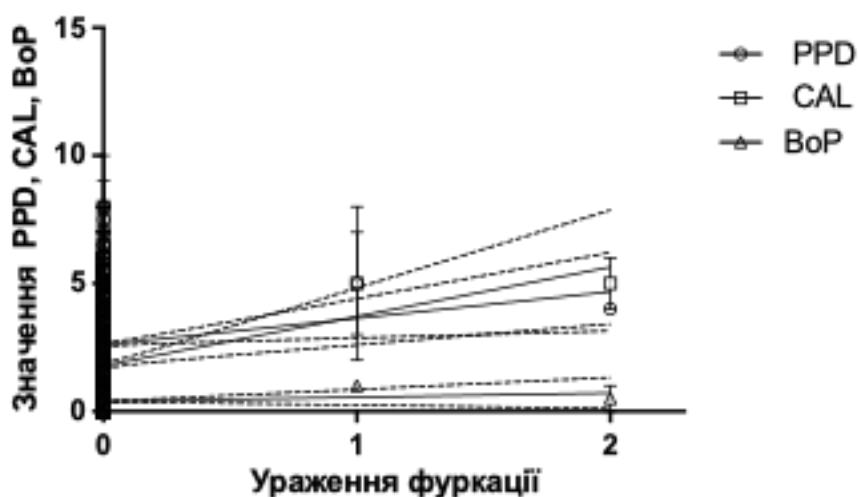


Рис. 3.5 Лінійна залежність періодонтальної глибини (PPD, мм), клінічної втрати прикріплення (CAL, мм) та наявності/відсутності кровоточивості при пробі зон (BoP) від числа залучених фуркацій.

Додаткові програмно розраховані дані для періодонтальної глибини в залежності від ураження фуркації виражені як нахил (slope): $1,038 \pm 0,391$ (95% ДІ 0,272 – 1,805), $p = 0,0081$. Тобто збільшення числа уражених фуркацій асоціюється із зростанням періодонтальної глибини на від 0,3 до 1,8 мм. А також Уперехоплення (intercept): $2,603 \pm 0,040$ (95% ДІ 2,524 – 2,682), що означає, що якщо не уражена жодна фуркація, очікувана періодонтальна глибина становить від 2,5 до 2,7 мм. $R^2 = 0,0074$ означає що, не зважаючи на достовірність, модель регресії пояснює лише $\approx 0,74\%$ варіабельності PPD.

Додаткові програмно розраховані дані для клінічного рівня втрати періодонту під впливом залучення фуркації виражені як нахил: $1,929 \pm 0,567$ (95% ДІ 0,817 – 3,041), $p = 0,0007$, що означає що при збільшенні числа уражених фуркацій на 1, CAL зростає від 0,8 до 3 мм. А також Уперехоплення: $1,785 \pm 0,058$ (95% ДІ 1,671 – 1,899) означає що якщо не уражена жодна фуркація, очікувана CAL становить від 1,7 до 1,9 мм. $R^2: 0,0121$ означає що, не зважаючи на достовірність, модель регресії пояснює лише $\approx 1,21\%$ дисперсії CAL.

Додаткові програмно розраховані дані для BoP під впливом залучення фуркації виражені як нахил: $0,1652 \pm 0,155$ (95% ДІ $-0,138 - 0,469$), $p = 0,2861$ - не достовірні, нахил не є значущим ($p > 0,05$) для цієї вибірки пацієнтів.

Отже, ступінь залученості фуркацій демонструє статистично значущий, але слабкий позитивний вплив на PPD і CAL, тоді як достовірного впливу на BoP не вловлено статистично ($p > 0,05$). Низькі значення R^2 вказують що перевіреній моделі не вистачає предикторів, оскільки залученням фуркацій можна пояснити лише малу долю варіабельності PPD і CAL.

Наступним вирішеним завданням була стратифікована рандомізація учасників дослідження на групи дослідження. Стратифікацію виконували за статтю, палінням та системними хворобами (компенсованими на момент обстеження). За представництвом стадії врівноважені були досліджувані основні групи – перша і друга, однак в контрольній групі – третя стадія переважала над другою (Табл. 3.2). Після стратифікованої рандомізації отримано групи дослідження з врівноваженим представництвом пацієнтів за віком, статтю, палінням, системними хворобами, але залучення фуркацій, переважали в контрольній групі (Табл. 3.2)

Таблиця 3.2

Представництво пацієнтів у трьох групах дослідження після стратифікованої рандомізації

Групи дослідження	Вік, роки, середнє	Стать (жін., n; чол., n)	Паління (n)	Системні хвороби (n)	Ступінь та стадія пародонтиту	Уражені фуркації (кількість зубів)
Контрольна група, n=14	29-73 49,5	Ж-9 Ч-5	2	8	2 В - 3 3 В - 11	27
Перша група, n=14	23-74, 48,5	Ж-11 Ч-3	2	8	2 В - 8 3 В - 6	15
Друга група, n=14	21-72, 48	Ж-11 Ч-3	2	8	2 В - 7 3 В - 7	15

Оскільки планувалося порівняння пропорцій кишень різної глибини і пропорцій втрати прикріплення різної величини, а також індексів кровоточивості і нальоту, тож після стратифікованої рандомізації було порівняно відповідні пропорції статистично (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

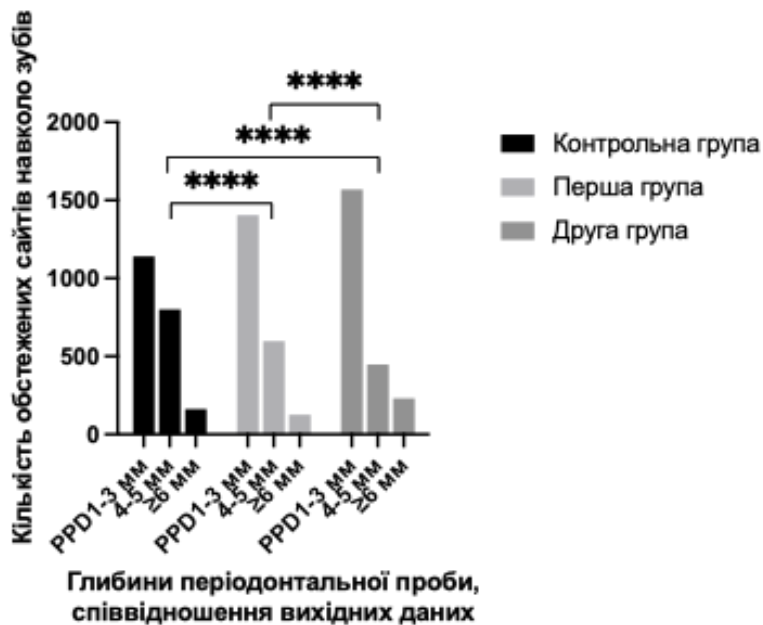
Співвідношення кількостей ділянок навколо зубів, оцінених клінічно при глибинних вимірюваннях після стратифікованої рандомізації і результати їх порівняння

Пропорції	Групи			Порівняння пропорцій методом χ^2 (хі-квадрат), R×C table, p
	Перша	Друга	Контрольна	
PPD 1-3/4-5/ ≥ 6 мм	1419 / 612 / 141	1584 / 463 / 245	1155/816/ 177	<0,0001
CAL $\geq 3/\geq 4$ мм	997 / 641	1213 / 903	1464/1210	=0,0004
(BoP +/- -)	641 / 1531	889 / 1403	808 / 1340	<0,0001
(Наліт +/- -)	1667 / 505	1408 / 884	1835 / 313	<0,0001

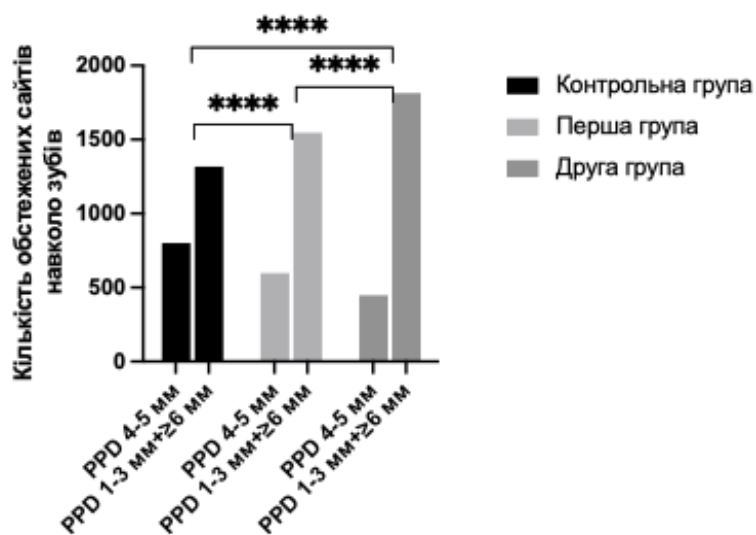
Примітка. Тут і далі: «+/-» присутність або відсутність ознаки, оцінене дихотомічно.

Порівняння кількості кишень тієї чи іншої глибини у пропорціях між групами дослідження до початку лікування показав достовірні відміни (табл. 3.3), які наглядно зображено на графіку рис. 3.6, що відображає нерівномірний характер

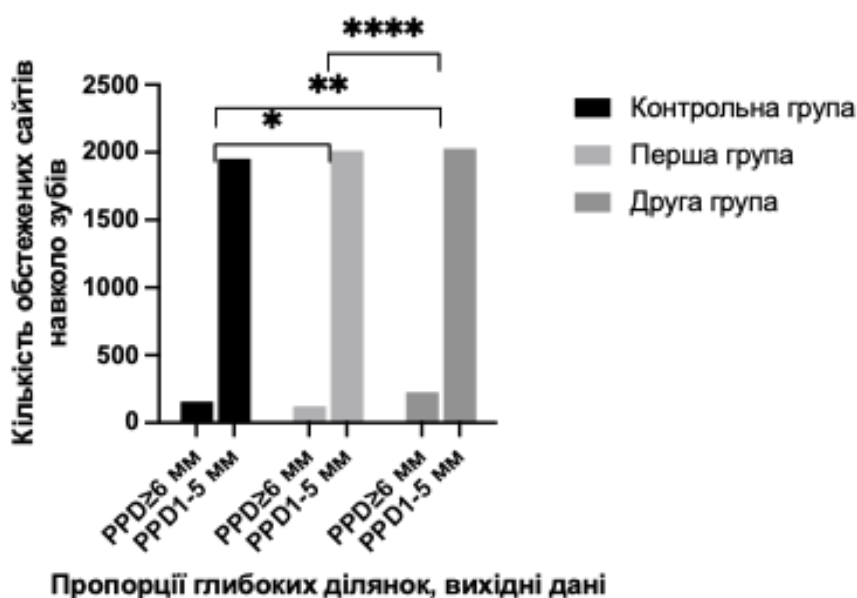
руйнування періодонту при ПД. Отже цей дисбаланс враховувався при подальшому порівнянні на етапах спостереження.



а)



б) Пропорції ділянок з глибиною 4-5 мм, вихідні дані



в)

Рис. 3.6 Результати порівняння пропорцій кількостей ділянок різних глибин у групах після рандомізації/ вихідні дані; (а) результати тесту χ^2 ($R \times C$ table) $p < 0,0001$; χ^2 (2×2 table):

(б) частка сайтів з глибиною 4-5 мм, порівняно з іншими глибинами χ^2 ($R \times C$ table), $p < 0,0001$; χ^2 (2×2 table): $p < 0,0001$, атрибутивний ризик (АР) 0,11; 95% ДІ 0,08-0,14; $p < 0,0001$, АР 0,22; 95% ДІ 0,19-0,25; $p < 0,0001$, АР 0,11; 95% ДІ 0,07-0,14, відповідно до послідовності порівнянь, тут і далі: контрольна з першою, контрольна з другою, перша з другою групою);

(в) частка глибоких сайтів ≥ 6 мм, порівняно з іншими глибинами χ^2 ($R \times C$ table), $p < 0,0001$; χ^2 (2×2 table): $p = 0,028$, АР 0,06; 95% ДІ 0,007-0,12; $p = 0,0055$, АР 0,07; 95% ДІ 0,02-0,12; $p < 0,0001$, АР 0,13; 95% ДІ 0,08-0,18, відповідно до послідовності порівнянь).

Порівняння кількості сайтів з різним пороговим рівнем втрати прикріплення, а саме, ≥ 3 мм або ≥ 4 мм, також показав нерівномірність розподілу ($p < 0,0001$, χ^2 тест, $R \times C$ таблиця) з різницями у 4-6% (відповідно до атрибутивних ризиків, Рис. 3.7) у першій групі, порівняно з контрольною та другою групами. Це демонструє нерівномірне представництво кількості ділянок з різною періодонтальною глибиною, і, відповідно, також вимагає врахування і було враховане при подальших порівняннях.

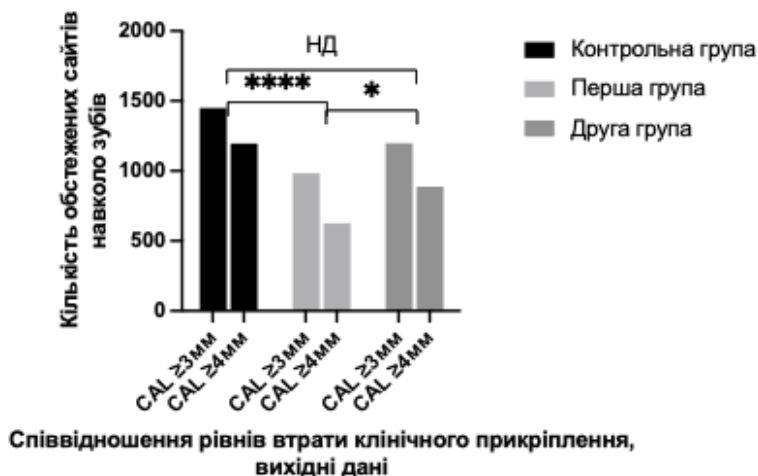


Рис. 3.7 Результати порівняння пропорцій кількості сайтів з різними категоріями рівнів втрати періодонтального прикріплення між групами після рандомізації/ вихідні дані; результати тесту χ^2 ($R \times C$ table), $p=0,0004$; та χ^2 (2×2 table) $p<0,0001$, AP 0,06; 95% ДІ 0,03-0,09; $p=0,07$, не достовірно; $p=0,029$, AP 0,04; 95% ДІ 0,003-0,07, відповідно до послідовності порівнянь: контрольна з першою, контрольна з другою, перша з другою групою.

Порівняння індексів кровоточивості (у пропорціях) показало також достовірні відміни після розподілу на групи ($p<0,0001$, χ^2 тест, $R \times C$ таблиця, табл. 3.3, рис. 3.8), що, знову таки, залежить від нерівномірної активності запалення.

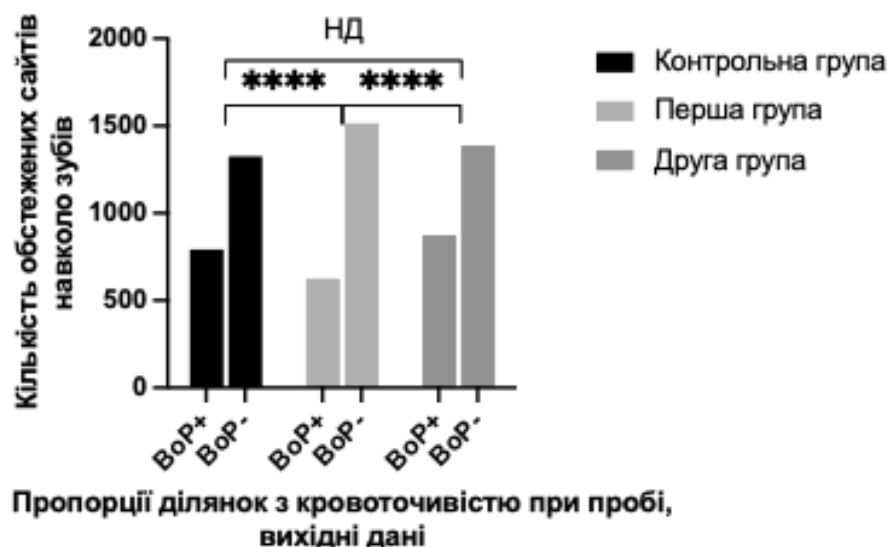


Рис. 3.8 Результати порівняння пропорцій сайтів з наявною та відсутньою кровоточивістю між групами після рандомізації/вихідні дані; результати тесту χ^2

(R×C table) $p < 0,0001$; χ^2 (2×2 table): $p < 0,0001$, AP 0,09, 95% ДІ 0,06-0,12; $p = 0,42$, не достовірно; $p < 0,0001$, AP 0,10, 95% ДІ 0,07-0,13, відповідно до послідовності порівнянь: контрольна з першою, контрольна з другою, перша з другою групою.

Індекси зубного нальоту розподілилися нерівномірно між групами, де відносно нижчим виявився середній індекс у другій групі, в якій планували призначати курс куркуміну (Рис. 3.9, табл. 3.3).

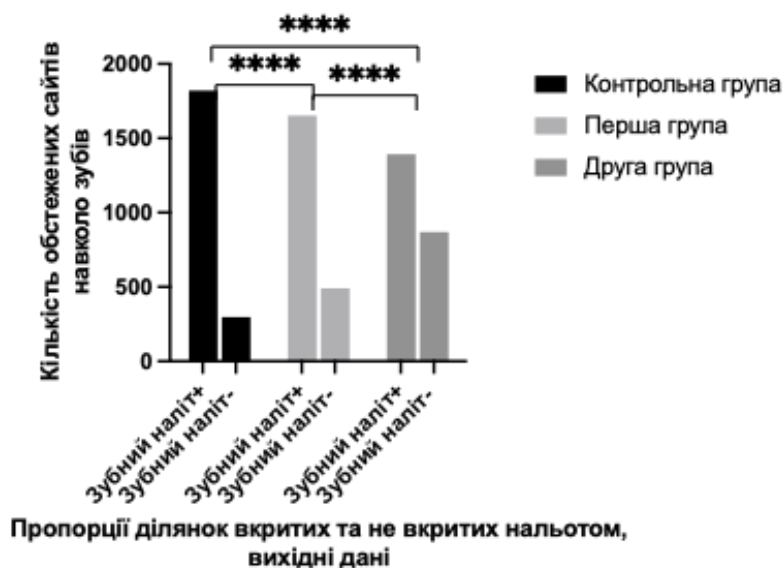


Рис. 3.9 Результати порівняння пропорцій сайтів з наявним та відсутнім нальотом між рандомізованими групами/ вихідні дані; результати тесту χ^2 (R×C table) $p < 0,0001$; результати тестів χ^2 (2×2 table): $p < 0,0001$, AP 0,14, 95% ДІ 0,10-0,18; $p < 0,0001$, AP 0,3, 95% ДІ 0,27-0,33; $p < 0,0001$, AP 0,18, 95% ДІ 0,15-0,21, відповідно до послідовності порівнянь: контрольна з першою, контрольна з другою, перша з другою групою.

Таким чином, після рандомізації з урахуванням демографічних даних та історії хвороб пацієнтів, клінічні індекси, які описують пародонтит не були рівномірними в групах, мали достовірні відмінності, що потребує врахування і було враховане при подальших висновках щодо статистичних порівнянь. Після рандомізації між групами дослідження виявили відміни щодо кількостей ділянок відповідних PPD, що підтверджує нерівномірність руйнування (навіть між

пацієнтами з однаковим діагнозом ПД, однаковими стадією і ступенем). Очевидно, що навіть за умов клінічно однакового ступеня тяжкості ПД, детальні глибинні вимірювання, що реєструє періодонтограма, виражені у співвідношенні порогових значень, розподіляють пацієнтів залежно від кількісних показників ділянок з цими значеннями.

Ще одним вимірюванням, проведеним у пацієнтів, включених у дослідження, було анкетування «Вплив стану порожнини рота на якість життя» (Розділ 2, Рис. 2.1) для об'єктивізації, на даному етапі, скарг. А в подальшому для порівняння як істинного показника, який відображає реальне сприйняття пацієнтом стоматологічних утручань/лікування.

Дані для груп наведені в таблиці 3.4. Як помітно з цієї таблиці, рис. 3.10 і підтверджено статистичною обробкою ($p=0.923$, χ^2 тест, $R \times C$ таблиця), вихідні дані анкетування були врівноважені між групами.

Таблиця 3.4

Загальні бали оцінки анкетуванням після стратифікованої рандомізації пацієнтів з хронічним пародонтитом

Груп	Контрольна група (n=14)	Перша група (n=14)	Друга група (n=14)
Сума балів анкетування на групу	235	196	228
3 784 можливих балів на групу			
$p=0,065$ (χ^2 тест, $R \times C$ таблиця)			

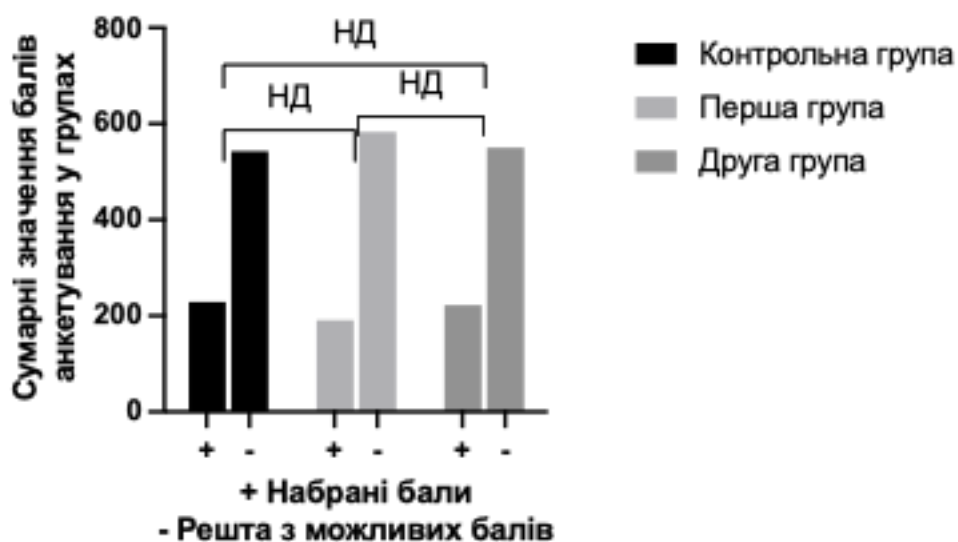


Рис. 3.10 Результати порівняння балів, набраних анкетуванням, між рандомізованими групами / вихідні дані: $p=0,065$, χ^2 , $R \times C$ table.

3.1.3. Зв'язки експресії комплексів міРНК тканин пародонту з клінічними показниками при хронічному пародонтиті. Аналіз взаємозв'язків з локальними клінічними даними ділянок, мав на увазі що всі ділянки, які підлягали гінгівектомії, навколо зубів, мали періодонтальні глибини 6 та більше мм, але нерівномірні на протязі висіченого біоптату ясен, присутню кровоточивість мінімум в одній ділянці навколо зуба і присутні зубні відкладення, тобто характеризувався дуже схожою або ідентичною клінікою з неможливістю відрізнити нюанси. Що пояснює недоцільність кореляційного аналізу з клінічними індексами.

З іншого боку, дані експресії міРНК показали великий розмах вибірок, правосторонній зсув гістограм частот, що показує дуже слабку чутливість і специфічність клінічних вимірювань при пародонтиті у зв'язку з різними рівнями експресії міРНК. Отже, клінічно локально майже неможливо передбачити рівні експресії комплексу міРНК.

Тим не менше, можливі кореляції доцільно проаналізувати між узагальненими до рівня пацієнта клінічними даними і рівнями експресії міРНК, у пошуку підтвердження закономірності що чим більше клінічних ознак запалення

при ПД, тим більше шансів що тканина біоптату ясен буде відображати ці зміни у вигляді рівнів експресії міРНК, які можуть корелювати з клінікою. Цей аналіз методом непараметричної кореляції між експресією міРНК і клінічними показниками вловив достовірність між пропорцією глибоких ділянок і експресією міРНК 29b-3p (Табл. 3.5).

Таблиця 3.5

**Достовірні непараметричні кореляційні зв'язки між клінічними
параметрами і експресією міРНК
при пародонтиті (до рандомізації на групи / вихідні дані)**

	138-5p	155-5p	29b-3p	142-3p	27a-3p
CAL ≥ 3 / ≥ 4 мм	НД	НД	НД	НД	НД
PPD ≥ 6 / 1-5 мм	НД	НД	p=0,04* (r=0,85)	НД	НД
BoP+/-	НД	НД	НД	НД	НД

Примітки: p – рівень значущості, r – коефіцієнт кореляції Спірмена, НД – не достовірно.

3.2 Вивчення експресії цитокінів ясен та їх зв'язку з експресією комплексів міРНК і клінічними показниками при пародонтиті

Рівні експресії маркерів запалення, якими слугували в даному дослідженні ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-10 та TGF- β вимірювались у пг/мл, і нг/мл – для ІЛ-10, і досліджувались у спочатку у T1 точці дослідження, тобто вихідні рівні.

До рандомізації, отримані результати показано на Рис. 3.11. Розподіл значень у варіаційних рядах відповідав закономірностям нормального – для ІЛ-1 і TGF- β , але не для ІЛ-10 і ІЛ-6 (тест Шапіро-Вілка, дані не наведені).

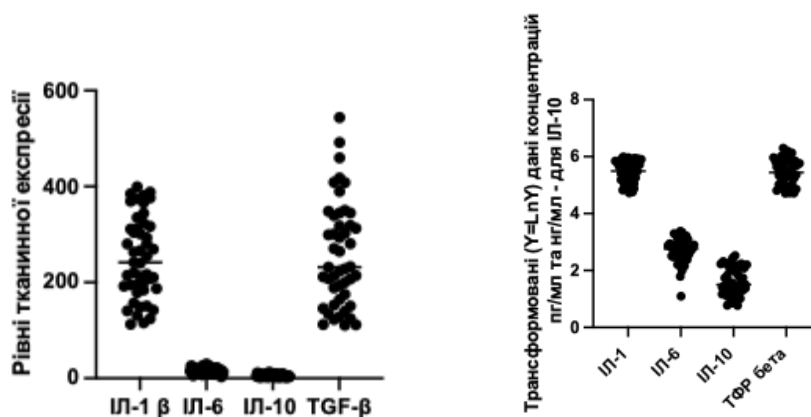


Рис. 3.11 Презентація рівнів цитокінів у тканинах ясен при пародонті до початку лікування:

- а) без трансформації;
- б) трансформовані функцією натуральних логарифмів $Y + \ln Y$.

Під час T1 до рандомізації достовірних кореляційних взаємозв'язків між цитокінами та міРНК не вдалось вловити в цьому дослідженні (рис. 3.11). Але IL-1 β мав майже достовірну зворотну кореляцію з IL-10 та явно достовірний зв'язок з TGF β ($p = 0,045$, $r = -0,29$; $p = 0,002$, $r = -0,43$ відповідно, Рис. 3.12).

До того ж, міРНК 138-5p корелювала з 155-5p ($r=0,67$, $p<0,0001$), 138-5p і 29b-3p ($r=0,71$, $p<0,0001$), 155-5p і 29b-3p ($r=0,93$, $p<0,0001$), а 27a-3p корелювала з трьома міРНК: 155-5p ($r = -0,45$, $p = 0,001$), 29b-3p ($r = -0,33$, $p = 0,023$), та 142-3p ($r = 0,33$, $p = 0,023$) (Рис. 3.12).

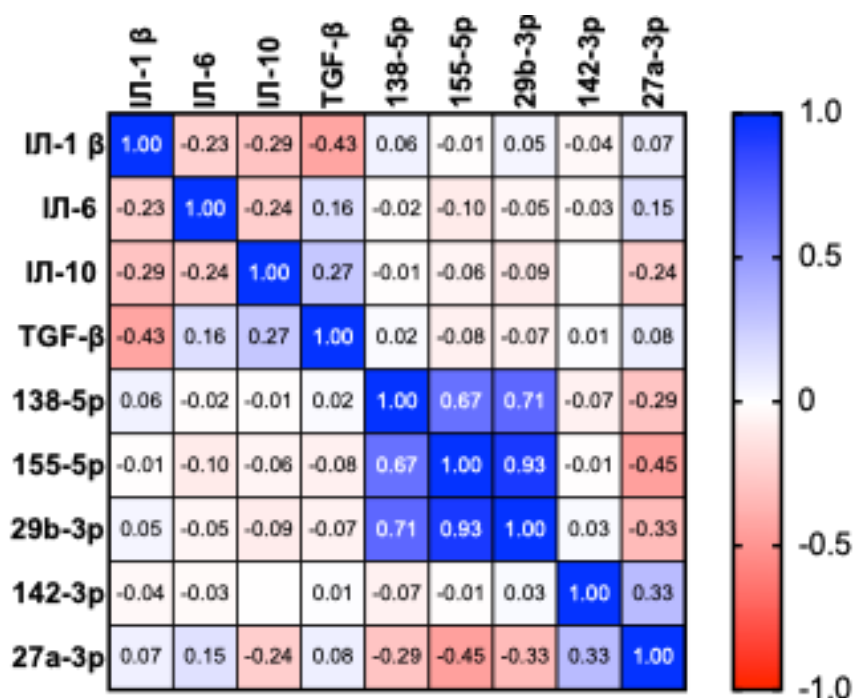


Рис. 3.12 Кореляційна матриця коефіцієнтів кореляції Спірмена між рівнями експресії міРНК і рівнями цитокінів при пародонтиті: достовірних кореляцій між мікроРНК і цитокінами не встановлено, але ряд мікроРНК і цитокінів корелюють між собою.

Примітка. Синій колір позначає позитивний напрям зв'язку, червоний - негативний, чим більш насичений колір, тим сильніше зв'язок.

Аналізуючи взаємозв'язки з локальними клінічними даними ділянок, де було відібрано біоптати, враховувалось, що всі ці ділянки мали глибину кишені 6 та більше мм, присутню кровоточивість і зубні відкладення, тобто були клінічно однорідні. Це обмежило біологічну доцільність кореляції конкретних клінічних вимірів з рівнями цитокінів.

Натомість, загальні клінічні показники full mouth, такі як частка глибоких ділянок та частка кровоточивих сайтів на рівні пацієнта достовірно позитивно корелювала з рівнями IL-10 та TGF- β , відповідно (табл. 3.8). Важливо уточнити, що, оскільки число глибоких ділянок і ділянок з кровоточивістю при пробі були у чисельнику, відповідно, трактовка кореляцій це зворотний напрямок, що узгоджується з переважно антизапальними функціями IL-10 та TGF- β .

Таблиця 3.8

Результати непараметричної кореляції Спірмена між клінічними пропорціями і кількісними показниками експресії цитокінів при пародонтиті у вигляді р-значень (і r-значень при досягненні достовірності)

	Частка CAL	Частка глибоких кишень	BoP+/-
ІЛ-1	0,522	0,144	0,067
ІЛ-6	0,933	0,778	1
ІЛ-10	1	0,033* (r=0,88)	0,267
TGF-β	0,1	0,556	0,022* (r=0,96)

Примітки: р- пі-значення, що показували достовірність при $<0,05$; r- коефіцієнт кореляції.

3.3 Зміни клінічних параметрів і молекулярних маркерів як оцінка ефективності стандартної періодонтальної терапії

У контрольній групі (n=14) всім пацієнтам проводили консервативне періодонтальне лікування, як описано в Розділі 2, у вигляді, власне, професійного механічного зняття зубних відкладень у вигляді “full mouth” -підходу 2 сесії/візита з інтервалом у добу (англ., PMPR). Після зняття відкладень у день проведення, рот ополіскували Listerine Total Care (Johnson&Johnson, США) 30 сек. і топічно наносили гель Perio-Aid Intensive Care (Dentaid, Іспанія). Для домашніх гігієнічних процедур призначали зубну пасту Sensodyne Rapid Relief (Haleon, Словачька Республіка) не менше 2 разів на день з експозицією не менше 2 хв., після їжі.

3.3.1. Зміни клінічних параметрів як оцінка ефективності стандартної періодонтальної терапії. Простежуючи динаміку співвідношень глибинних вимірювань у трьох категоріях (PPD 1-3 мм /4-5 мм / ≥ 6 мм) спочатку до кінця

спостереження (Рис. 3.13), після професійного механічного зняття зубних відкладень, виявлені достовірні зміни при тестуванні тренду методом χ^2 R×C таблиця: $p < 0.0001$.

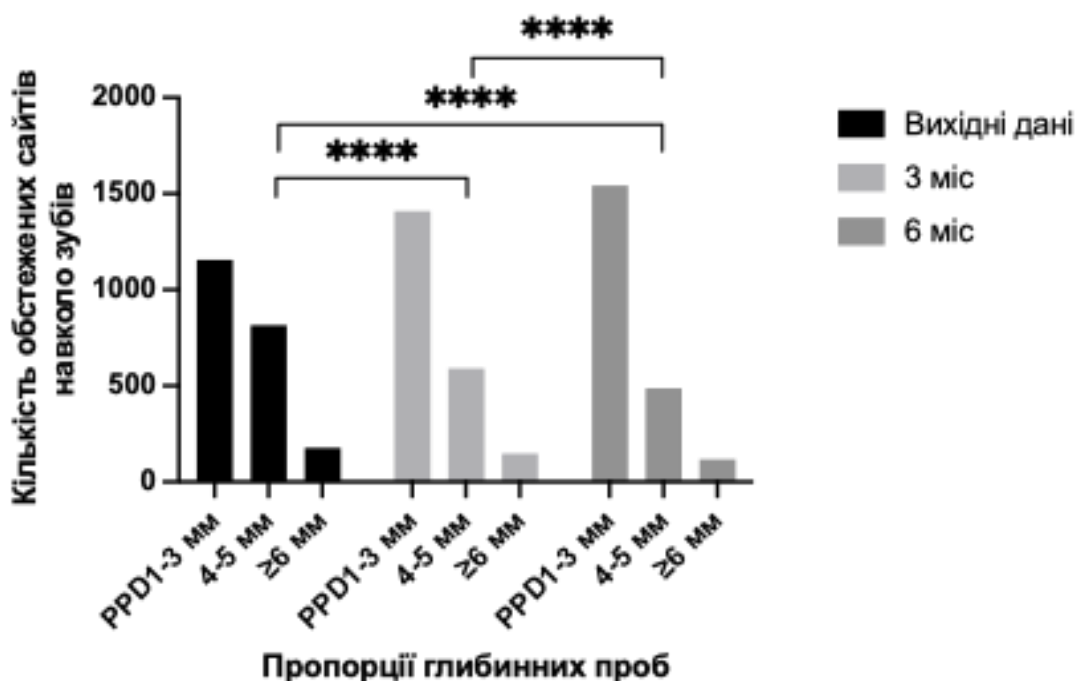


Рис. 3.13 Результати порівняння співвідношень трьох категорій періодонтальних глибин у контрольній групі між T1, T2, T3 точками дослідження, результати тесту χ^2 (R×C table) $p < 0,0001$.

Детальний аналіз встановив достовірні зміни в цих пропорціях через 3 місяці в цій групі, через 6 місяців, порівняно з вихідними даними, але також між термінами 3 і 6 місяців (Табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Результати порівняння пропорцій періодонтальних глибин у контрольній групі між термінами спостереження

	Вихідні дані (n=14)	3 міс	6 міс	p, χ^2

PPD1-3 мм /	1155 /	1409/	1543/	p<0,0001
4-5 мм /	816/	591/	488/	
≥6 мм	177	148	117	
				p<0,0001
PPD1-3 + 4-5 мм	1971/	2000/	2031/	p=0,0014
/ ≥6 мм	177	148	117	
-	p=0,0943 НД		-	-
-	p=0,0003			Атрибутивний ризик 0,11; 95% ДІ 0,05 – 0,17
-	-	p=0,049		Атрибутивний ризик 0,06; 95% ДІ 4,424e-006 -0,13

Примітка: в таблиці наведені кількості і пропорції обстежених ділянок. Всі р отримано методом χ^2 : R×C та 2×2 таблиці. Клямра відображає між якими стовпцями проведено порівняння. НД – статистично не достовірно.

Порівняння пропорцій у вигляді двох категорій – глибокі і всі інші ділянки (PPD1-3 + 4-5 мм/ ≥6 мм), також показало статистично достовірну відмінність (Табл. 3.9, Рис. 3.14). Так, відміни між вихідними даними пацієнтів та вимірюваннями на 6й місяць досягали 11%, від 5 до 17%, згідно розрахованому конфіденційному інтервалу (Табл. 3.9). Відміни між 3м і 6м місяцями були на межі статистичної достовірності (p=0,049), і складала лише невисокий відсоток – 6% (Табл. 3.9: атрибутивний ризик 0,062).

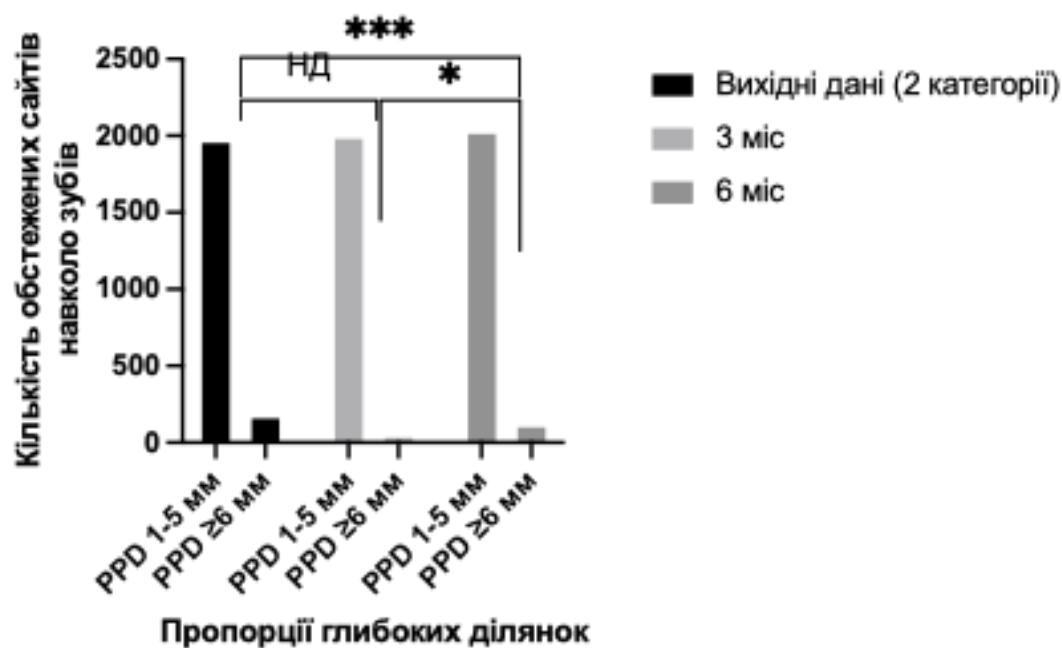


Рис. 3.14 Результати порівняння пропорцій глибоких періодонтальних глибин відносно всіх інших у контрольній групі між термінами дослідження, результати тесту χ^2 ($R \times C$ table) $p=0,0014$.

Всі разом, показані і підтверджені зміни кількості сайтів різної глибини, відображають процес «закриття кишень», та включають зменшення у тому рахунку і числа глибоких сайтів після 1-2 кроків активного періодонтального лікування.

Аналіз динаміки співвідношень рівнів втрати прикріплення у двох категоріях ($CAL \geq 3\text{мм}$ / $\geq 4\text{мм}$) (Рис. 3.15) не вловив статистично значущих змін на двох досліджених термінах (результати статистичної обробки не наводили). Ці результати відображають обмеженість процедур 1-2 кроку періодонтального лікування по відновленню рівнів прикріплення.

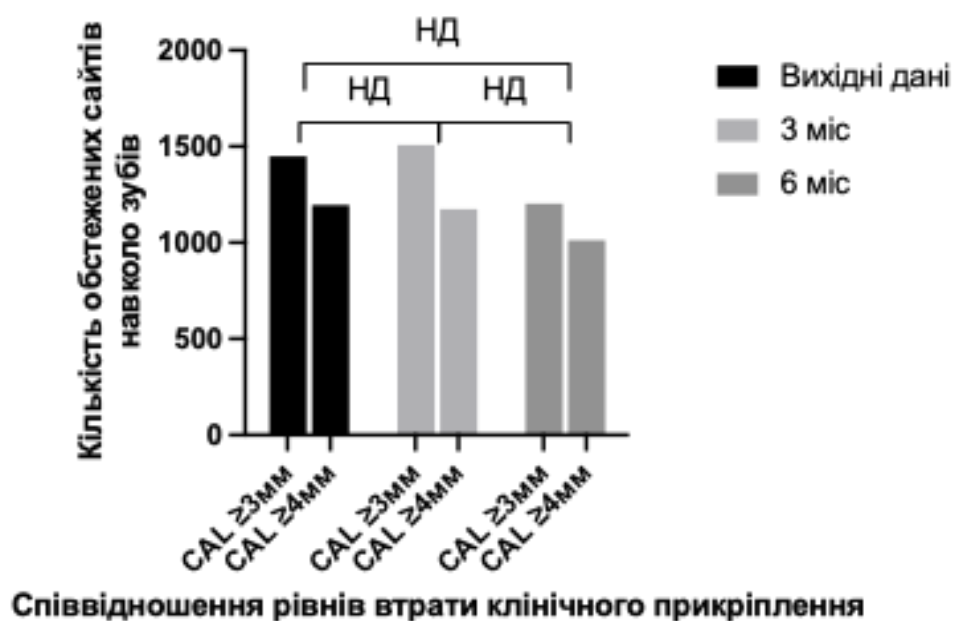


Рис. 3.15 Результати порівняння співвідношень різних рівнів клінічного прикріплення у контрольній групі між термінами дослідження; результати тесту χ^2 (RxC table) $p>0,05$, не достовірно.

Аналіз динаміки змін індексу кровоточивості, який також підлягав статистичній обробці у вигляді пропорцій (BoP +/-), показав достовірні зміни (Табл. 3.10) у вигляді зменшення кількості кровоточивих сайтів і, відповідно, збільшення сайтів без кровоточивості, що демонструє Рис. 3.16, і що підтверджує очікувані результати лікування і спостереження.

Середній розмір ефектів був подібний на 3й і на 6й місяць (15% та 13%, відповідно), порівняно з початковими даними. Це відображає що основні зміни спостерігаються вже на 3й місяць після зняття зубних відкладень як основної професійної маніпуляції періодонтальної терапії а після наступного кварталу частина ділянок вже потребує підтримуючої періодонтальної терапії.

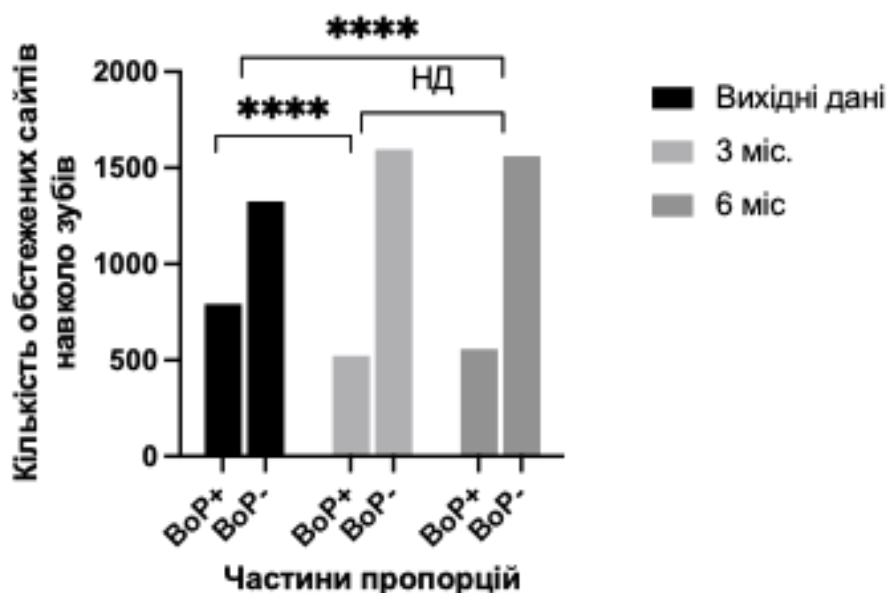


Рис. 3.16 Результати порівняння пропорцій кровоточивих сайтів у контрольній групі між термінами дослідження; результати тесту χ^2 (R×C table) $p < 0,0001$.

Таблиця 3.10

Результати порівняння пропорцій ділянок з кровоточивістю при пробі у контрольній групі між термінами спостереження та середній відсоток індексу BoP

-	Вихідні дані (n=14)	3 міс	6 міс	p, χ^2
BoP +/-	808/1340	538/1610	572/1576	$p < 0,0001$
-	$p < 0,0001$		-	Атрибутивний ризик 0,15 95% ДІ 0,11-0,18
-	$p < 0,0001$			Атрибутивний ризик 0,13 95% ДІ 0,09-0,16
-	-	$p = 0,236$ НД		-

BoP, %	37,6	25,1	26,6	-
--------	------	------	------	---

Примітка: в таблиці наведені кількості і пропорції обстежених ділянок. Всі р отримано методом χ^2 : R×C та 2×2 таблиці. Клямри відображають між якими стовпцями проведено порівняння. НД – статистично не достовірно.

У звичних одиницях, середній індекс кровоточивості 26,6%, у групі на кінець спостереження все ще перевищував бажаний для досягнення порогового (для колишніх курців значення 23% вважається пороговим, тоді як для курців це значення становить 16%) [199-201].

І, нарешті, вивчення динаміки змін індексу зубного нальоту, який також підлягав статистичній обробці у вигляді пропорцій (зубна бляшка +/–), показав достовірні зміни у вигляді зменшення кількості сайтів з нальотом і, відповідно, збільшення сайтів без видимої зубної бляшки, що демонструє Рис. 3.17 і Табл. 3.11.

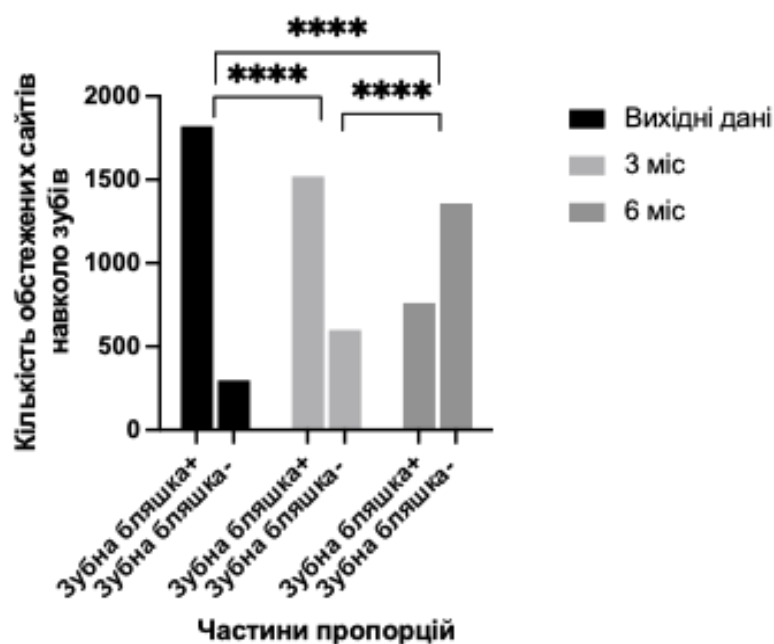


Рис. 3.17 Результати порівняння пропорцій ділянок вкритих зубними нальотом у контрольній групі між термінами дослідження; результати тесту χ^2 (R×C table) $p < 0,0001$.

У звичних одиницях, середній індекс нальоту 36,1% на 6й місяць перевищував рекомендований пороговий (20% [201]) (Табл. 3.11).

Таблиця 3.11

**Результати порівняння пропорцій ділянок з зубним нальотом у
контрольній групі між термінами спостереження
та середній індекс нальоту**

-	Вихідні дані (n=14)	3 міс	6 міс	p, χ^2
Зубна бляшка +/-	1835 / 313	1534 / 614	776 / 1372	p< 0,0001
-	p< 0,0001			Атрибутивний ризик 0,21 95% ДІ 0,17 – 0,24
-	p< 0,0001			Атрибутивний ризик 0,52 95% ДІ 0,49 – 0,54
-	-	p< 0,0001		Атрибутивний ризик 0,35 95% ДІ 0,33 – 0,38
Індекс зубного нальоту, %	85,5	71,4	36,1	-

Оцінка балів, набраних анкетуванням у цій групі показала динаміку покращення згідно саморепортування (Табл. 3.12). На 3й та 6й місяці бали були достовірно нижче: на 27 та 32 % відповідно, порівняно з вихідними даними; між 3м та 6м місяцями різниця не досягала статистичної достовірності (Табл. 3.12).

Таблиця 3.12

**Результати порівняння балів, набраних анкетуванням, у пацієнтів
контрольної групи між термінами спостереження (n=14)**

	Вихідні дані	3 міс	6 міс	p
Сума балів, набраних анкетуванням	235	96	75	p<0,0001 (χ^2 тест, R×C табл.)
3 784 можливих балів				
-	p<0,0001		-	Атрибутивний ризик 0,27 95% ДІ 0,21- 0,32
-	p<0,0001			Атрибутивний ризик 0,32 95% ДІ 0,26 - 0,38
-	-	p=0,09 НД		-

Примітка: в таблиці наведені частини для пропорцій у вигляді набраних та можливих балів, передбачених анкетною. Всі p отримано методом χ^2 : R×C та 2×2 таблиці. Клямри відображають між якими стовпцями проведено порівняння. НД – не достовірно.

Презентація для візуалізації даних анкети відображає як знижуються набрані бали (перші стовбці для кожної групи), які відповідають рівню скарг на 3й місяць і на 6й (Рис. 3.18).

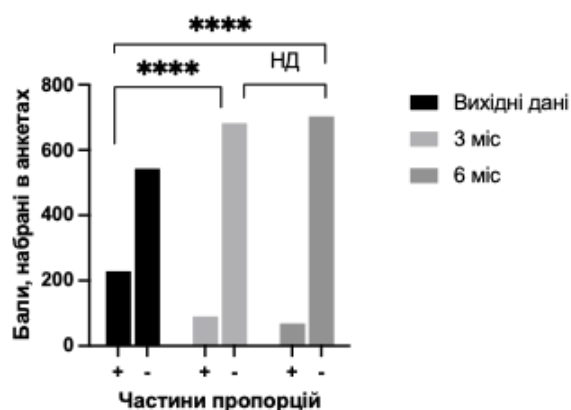


Рис. 3.18 Результати порівняння анкетування, у вигляді співвідношень набраних балів до решти з кількості можливих, у пацієнтів контрольної групи між термінами спостереження; результати тесту χ^2 (R×C table) $p < 0.0001$.

3.3.2. Зміни рівнів експресії міРНК у відповідь на стандартну періодонтальну терапію. Оцінка передбачала порівняння експресії комплексу міРНК в тканинах ясен у контрольній групі пацієнтів у трьох часових точках дослідження, T1, T2 і T3, як описано в організації дослідження.

На 3й та 6й місяці результати визначення рівнів експресії міРНК 138-5p показали в середньому збільшення а потім зниження, відповідно, але статистично не вдалось вловити достовірність цих змін (Рис. 3.19 а). У чотирьох випадках індивідуальні показники знижувались під час T2 і потім підвищувались під час T3 (Рис. 3.19 б).

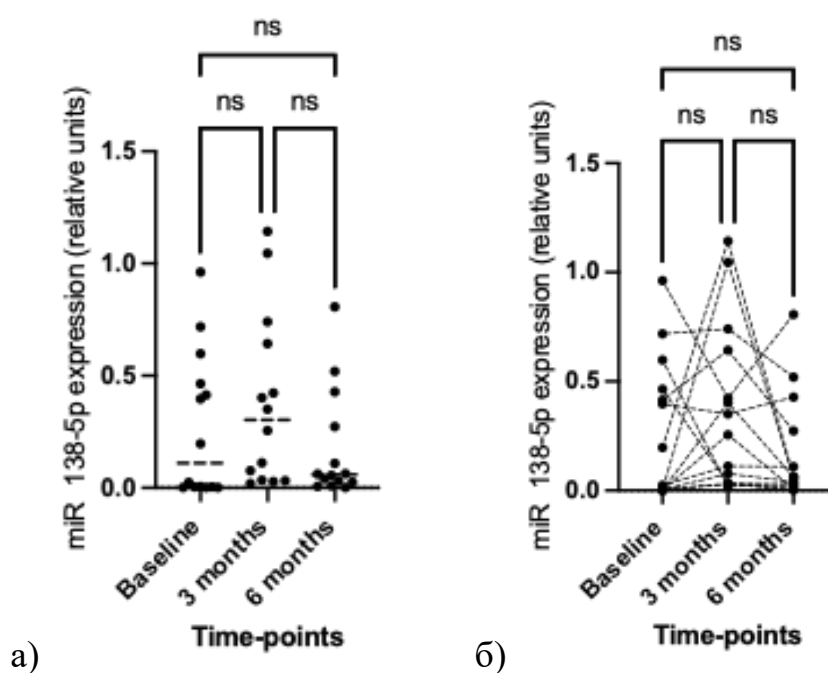


Рис. 3.19 Результати порівняння рівнів експресії міРНК 138-5р тканин ясен у контрольній групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

- (а) індивідуальні показники та медіани;
- (б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR-... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: T1 - Baseline, вихідні дані, T2 – 3-місячний контроль, T3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Середні рівні експресії міРНК 155-5р для групи достовірно підвищувались на візит 3 місяці ($p=0.0103$, скориговане $p=0.0075$, Friedman test), а потім, на візит 6 місяців – дещо знижувались (Рис. 3.20 а). Одна індивідуальна траєкторія показала протилежні зміни (Рис. 3.20 б).

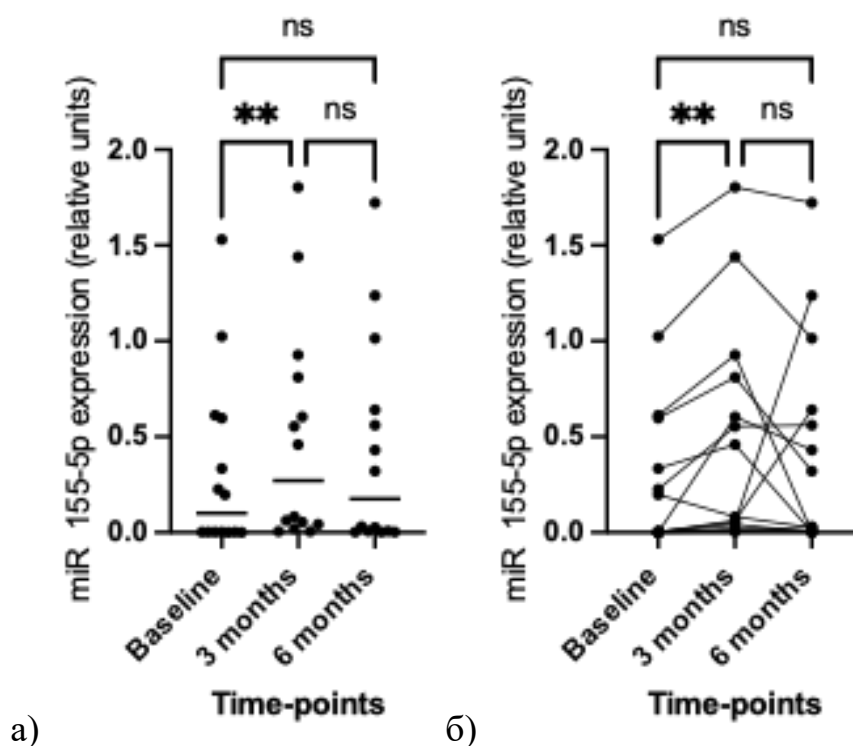


Рис. 3.20 Результати порівняння рівнів експресії 155-5р тканин ясен у контрольній групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

- (а) індивідуальні показники та медіани;

(б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR-... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: T1 - Baseline, вихідні дані, T2 – 3-місячний контроль, T3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Рівні експресії міРНК 29b-3р загалом знижувались на 3й місяць, і потім, на 6й місяць, незначно підвищувались, але статистична обробка не встановила достовірності при жодному з цих порівнянь (Рис. 3.21 а). Але шість індивідуальних траєкторій показали підвищення під час T2 і зниження під час T3 (Рис. 3.21 б).

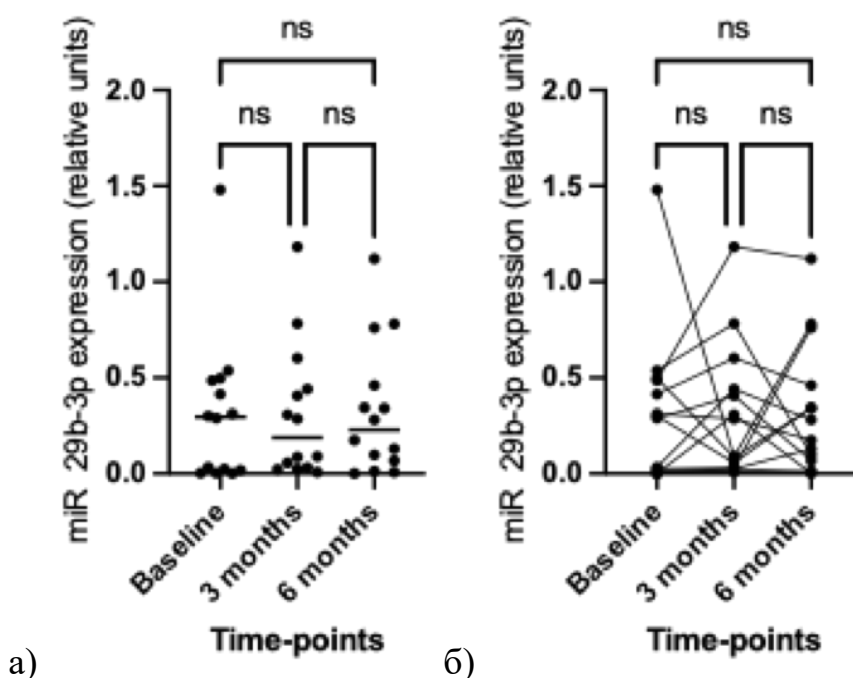


Рис. 3.21 Результати порівняння рівнів експресії 29b-3р тканин ясен у контрольній групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

(а) індивідуальні показники та медіани;

(б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR-... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: T1 - Baseline, вихідні дані, T2 – 3-місячний контроль, T3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Рівні експресії міРНК 142-3р при порівнянні медіан, помітно не змінювались на візит 3 місяці, а потім, на візит 6 місяців – підвищувались, але статистичне порівняння не вловило достовірності цих змін ($p=0.75$) (Рис. 3.22 а). Три індивідуальні значення показали виразне підвищення під час Т2, і два з них підвищувались далі під час Т3 (Рис. 3.22 б).

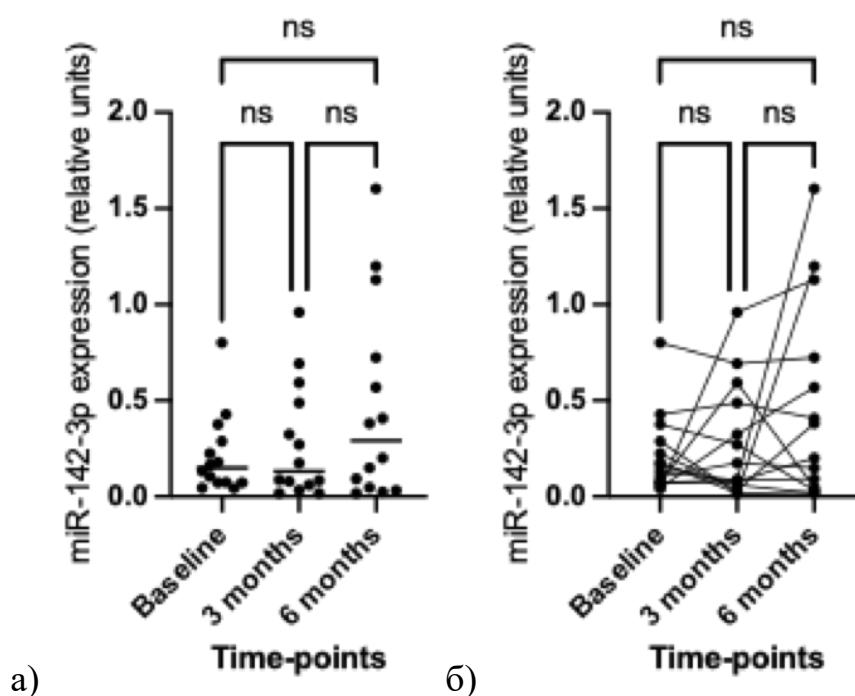


Рис. 3.22 Результати порівняння рівнів експресії 142-3р тканин ясен у контрольній групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

- (а) індивідуальні показники та медіани;
- (б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR-... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: Т1 - Baseline, вихідні дані, Т2 – 3-місячний контроль, Т3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Рівні експресії міРНК 27a-3р при порівнянні медіан майже достовірно підвищувались на візит 3 місяці ($p=0.046$, скориговане $p=0.042$, Friedman test), а потім, на візит 6 місяців – дещо знижувались, і втрачали достовірність відмін як від

вихідного, так і від 3х-місячного рівнів (Рис. 3.23 а). Вісім індивідуальних значень підвищувались під час Т2 і 10 – знижувались під час Т3, в т.ч. і незначно, що співпадало із тенденцією змін медіан.

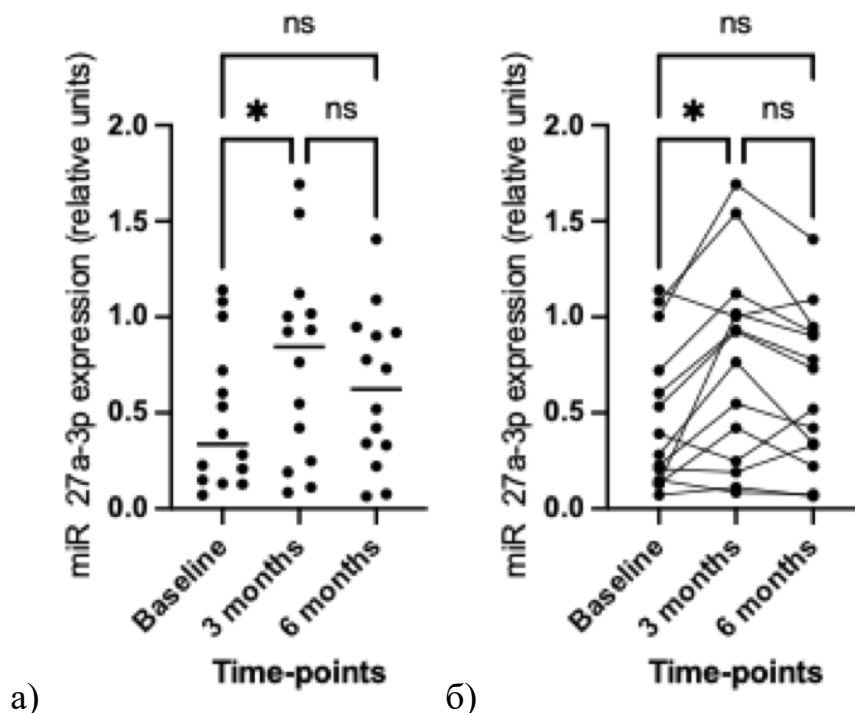


Рис. 3.23 Результати порівняння рівнів експресії міРНК 27а-3р тканин ясен у контрольній групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

- (а) індивідуальні показники й медіани;
- (б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR-... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: Т1 - Baseline, вихідні дані, Т2 – 3-місячний контроль, Т3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

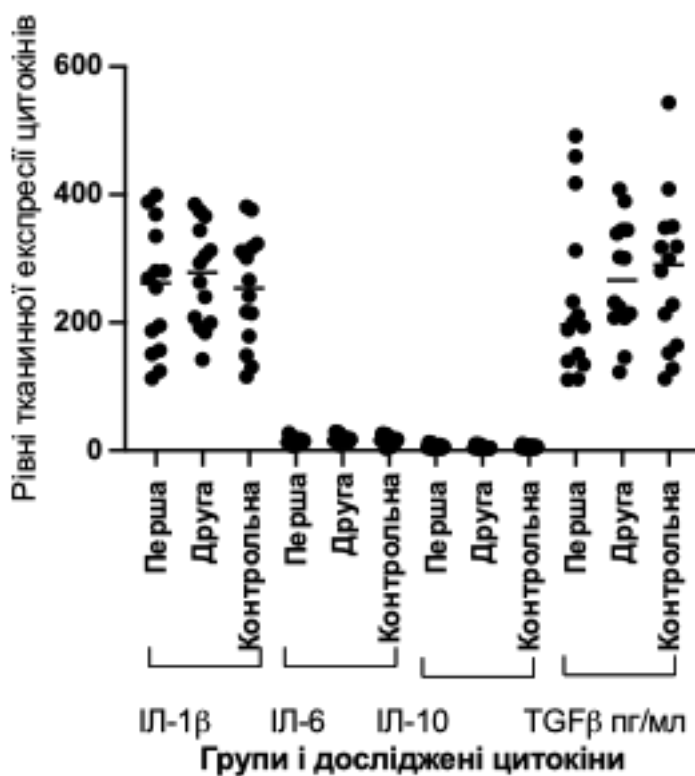
Таким чином, статистична оцінка показала достовірне підвищення рівнів експресії міРНК 27а-3р та міРНК 155-5р і лише на 3й місяць у контрольній групі. Статистична оцінка всіх інших міРНК у часові проміжки не змогла вловити достовірність. Окремі індивідуальні траєкторії, окрім для міРНК 27а-3р,

демонстрували протилежні від медіан (усереднення для групи) напрямки змін після лікування під час T2, T3.

3.3.3. Зміни рівнів експресії цитокінів ясен у відповідь на стандартну періодонтальну терапію. Згідно дизайну, частина біоптату ясен призначалась для оцінки цитокінів під час T1 і T3 візитів.

На рис. 3.24 а продемонстрована рівномірність розподілу після рандомізації вихідних даних по всіх цитокінах; **зміни рівнів експресії у другій та третій групах подано у підрозділах 3.4, 3.5.**

Далі на Рис. 3.24 б-д показані результати порівнянь у контрольній групі між часовими точками T1 і T3.



а)

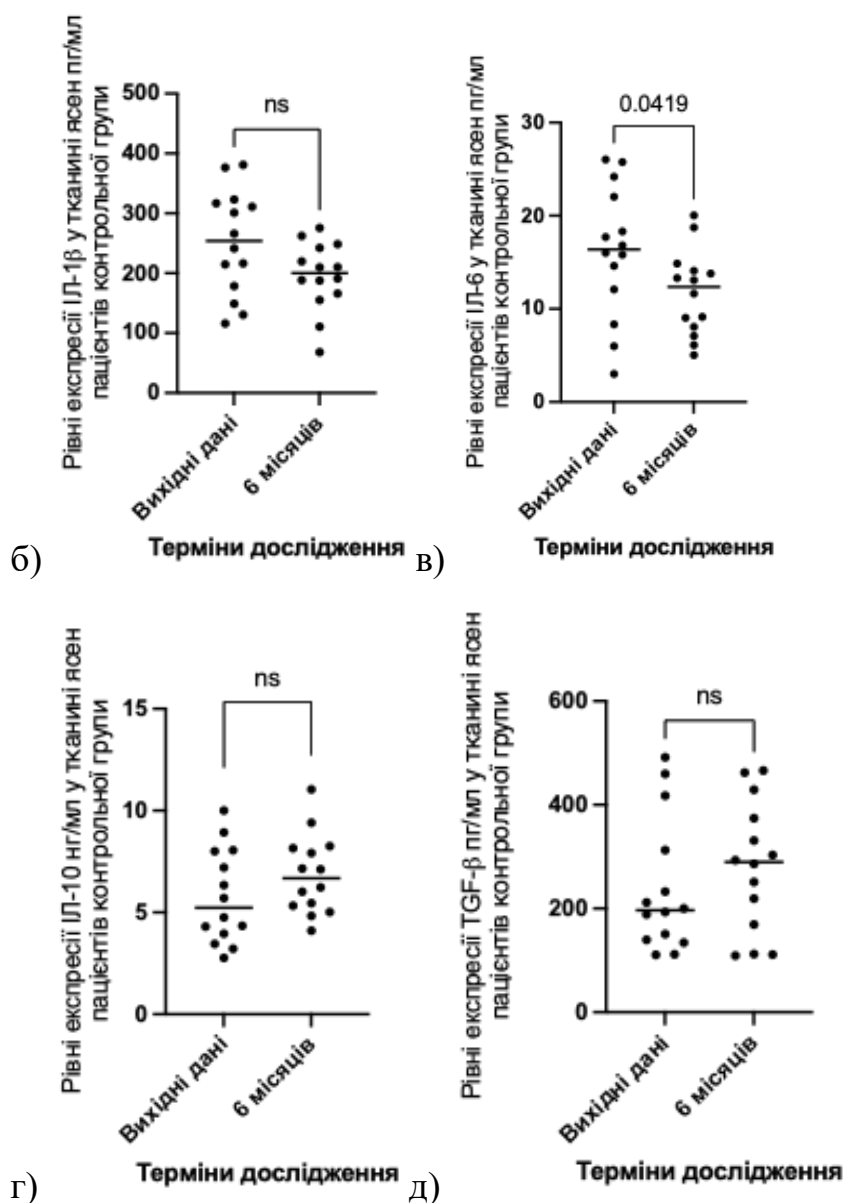


Рис. 3.24. Результати порівняння рівнів цитокінів після рандомізації на три групи вихідних даних, результати ANOVA не досягають достовірності (а); і після стандартного періодонтального лікування у контрольній групі, результати парного тесту Вілкоксона (б, в, г, д); ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Отримані результати показали, що достовірна різниця, вловлена для зниження рівнів ІЛ-6 через 6 місяців, досягала достовірних відмін від вихідного рівня. Статистичний метод Вілкоксона є непараметричними ранговим тестом, тому не дає конфіденційний інтервал значень для розуміння величини ефекту. Коливання інших досліджених цитокінів не досягали достовірних відмін під час ТЗ (6 місяців) після початку активного періодонтального лікування.

3.4 Зміни клінічних параметрів і молекулярних маркерів як оцінка ефективності прийому епігалокатехін галату додатково до стандартної періодонтальної терапії

3.4.1. Зміни клінічних параметрів як оцінка ефективності додаткового прийому епігалокатехін галату. Пацієнтам першої групи проводили спочатку консервативне періодонтальне лікування і одночасно розпочинали курс на 2 місяці прийому епігалокатехін галату (Green Tea Extract EGCg, Now Foods, США) 400 мг по 1 капсулі на день), як описано в Розділі 2.

Простежуючи динаміку співвідношень глибинних вимірювань у трьох категоріях (PPD1-3 мм / 4-5 мм / ≥ 6 мм) під час T1, T2 і T3 (вихідні дані до лікування, 3й і 6й місяць з початку лікування) (Рис. 3.25), було встановлено достовірні зміни при аналізі методом χ^2 R×C таблиця: $p < 0.0001$.

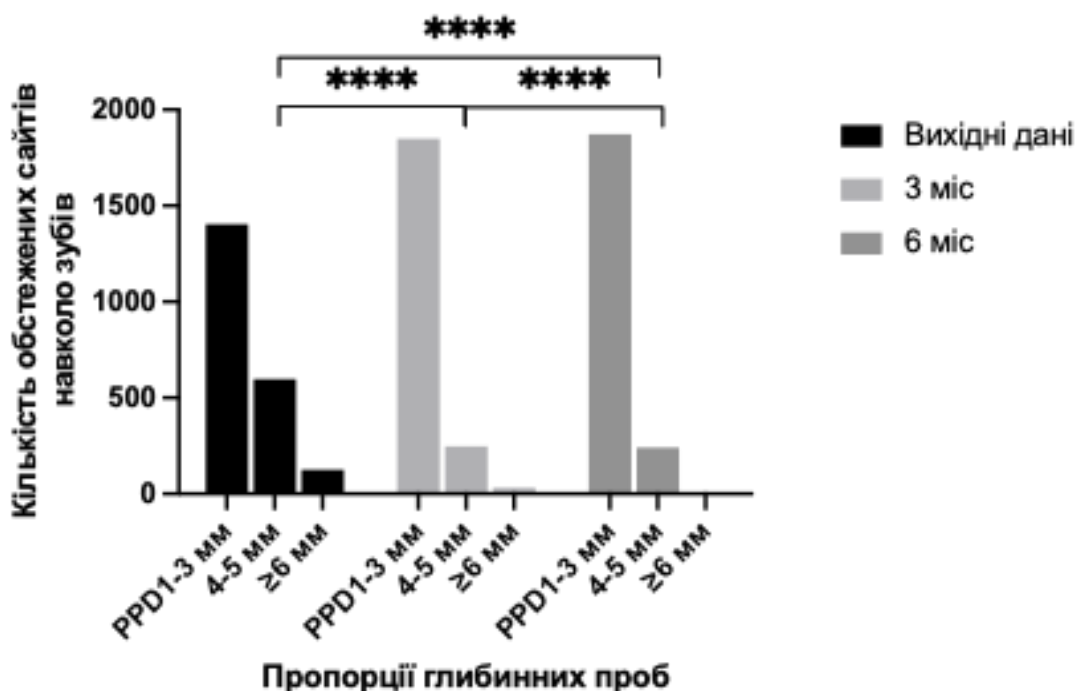


Рис. 3.25 Результати порівняння співвідношень трьох категорій періодонтальних глибин у першій групі, з додатковим курсом епігалокатехін галату, між термінами T1, T2, T3 дослідження; результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p < 0.0001$.

Більш детальний аналіз (тест χ^2 2×2 таблиця) встановив достовірні зміни між цими пропорціями на момент візиту 3 місяці, що складає місяць після закінчення курсу прийому, і 6 місяців, порівняно з вихідними даними.

При порівнянні між 3м і 6м місяцями достовірності змін не вловлено статистично (Рис. 3.25, Табл. 3.13).

Таблиця 3.13

Результати порівняння пропорцій періодонтальних глибин у першій групі в залежності від терміну спостереження

	Вихідні дані (n=14)	3 міс	6 міс	p, χ^2
PPD 1-3 мм / 4-5 мм / ≥6 мм	1419/ 612/ 141	1864/ 263/ 45	1887/ 256/ 29	p<0,0001
	p<0,0001			-
	p<0,0001			-
	-	p=0,158 НД		-
PPD ≥6 мм/ 1-3 + 4-5 мм	141/2031	45/2127	29 /2143	p<0,0001
-	p<0,0001			Атрибутивний ризик 0,27 95% ДІ 0,21 –0,34
-	p<0,0001			Атрибутивний ризик 0,34 95% ДІ 0,29 – 0,41

-	-	p=0,061 НД	-
---	---	------------	---

Примітка: в таблиці наведені кількості і пропорції обстежених ділянок. Всі р отримано методом χ^2 : R×C та 2×2 таблиці. Клямри відображають між якими стовпцями проведено порівняння. НД – статистично не достовірно.

Порівняння пропорцій у вигляді двох категорій – глибокі ділянки проти двох інших категорій (PPD ≥ 6 мм/ 1-3 + 4-5 мм), також показало статистичну достовірність (Табл. 3.13, Рис. 3.26). Атрибутивний ризик між вихідними даними і даними на 3й місяць відображає що пропорції відрізняються на 27%, а реальна різниця з найбільшою вірогідністю складає від 21 до 34% (95% довірчий інтервал) (Табл. 3.13).

Атрибутивний ризик між вихідними даними і даними на 6й місяць відображає що пропорції відрізняються на 34%, а реальна різниця з найбільшою вірогідністю складає від 29 до 41% (Табл. 3.13).

Результати порівняння між 3м і 6м місяцями не досягали статистичної достовірності (Табл. 3.13).

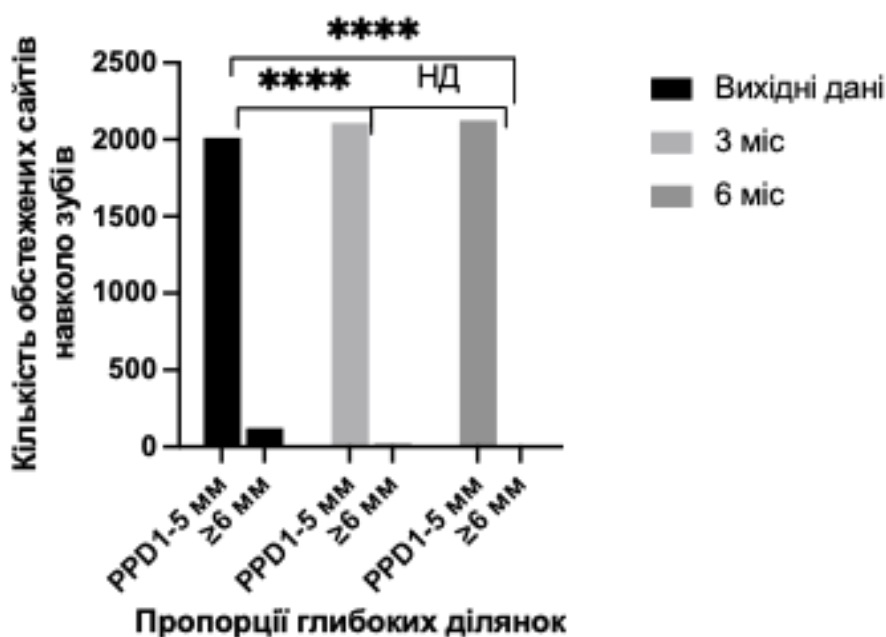


Рис. 3.26 Результати порівняння пропорцій глибоких періодонтальних ділянок відносно всіх інших у першій групі, з додатковим курсом епігалокатехін галату, між термінами дослідження; результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p < 0,0001$.

Всі разом, показані і підтверджені зміни кількості сайтів різної глибини, відображають процес «закриття кишень», та включають зменшення і числа глибоких кишень після активного періодонтального лікування з додатковим курсом прийому епігалокатехін галату (англ. epigallocatechin-3-gallate, EGCg) вже на 3й місяць, хоча і без подальших достовірних змін на 6й місяць, порівняно з 3 місяцем.

Аналіз динаміки співвідношень рівнів клінічного прикріплення у двох категоріях ($CAL \geq 3mm$ / $\geq 4mm$) (Рис. 3.27) не вловив статистично значущих змін на двох досліджених термінах (результати статобробки не наводили). Отже, вплив періодонтального лікування разом з додатковим курсом EGCg проявив обмежений вплив щодо відновлення рівнів періодонтального прикріплення.

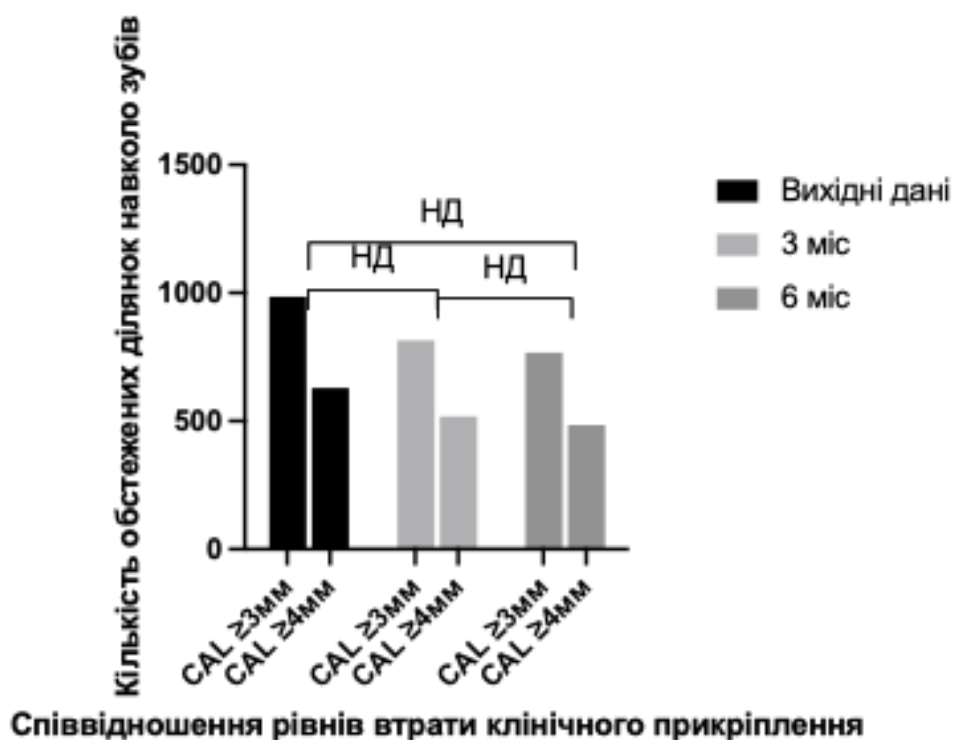


Рис. 3.27 Результати порівняння співвідношень різних рівнів клінічного прикріплення у першій групі з додатковим курсом EGCG; результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p>0,05$, не достовірно.

Аналіз динаміки змін індексу кровоточивості при пробі, який також підлягав статистичній обробці у вигляді пропорцій (BoP +/-) (Рис. 3.28), показав статистично достовірні відмінності на 3й, 6й місяць, порівняно з вихідними даними і між 3м і 6м місяцями також (Табл. 3.14).

Найбільший розмір ефекту, 25% в середньому (0,25 розрахований атрибутивний ризик), відзначено на 6й місяць, порівняно з вихідними даними (Табл. 3.14).

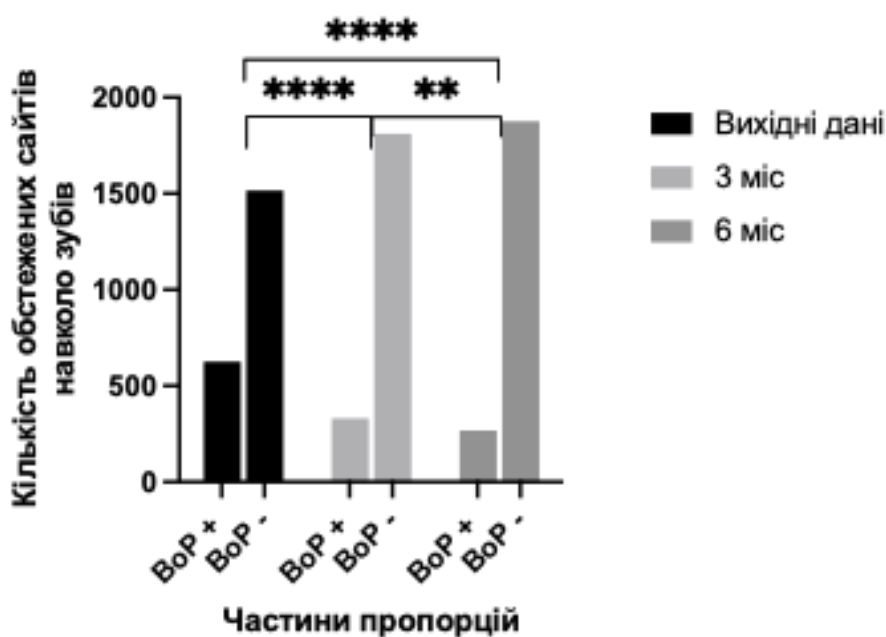


Рис. 3.28 Результати порівняння пропорцій кровоточивих при пробі ділянок у першій групі, з додатковим прийомом EGCG, між термінами дослідження; результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p<0,0001$.

Таблиця 3.14

Результати порівняння пропорцій ділянок з кровоточивістю при пробі у пацієнтів першої групи в залежності від терміну спостереження

та середній відсоток індексу кровоточивості при пробі

-	Вихідні дані (n=14)	3 міс	6 міс	p, χ^2
BoP +/-	641/1531	346/1826	282/1890	p< 0,0001
-	p< 0,0001		-	Атрибутивний ризик 0,19 95% ДІ 0,16 – 0,23
-	p< 0,0001			Атрибутивний ризик 0,25 95% ДІ 0,21 – 0,28
-	-	p=0,006		Атрибутивний ризик 0,06, 95% ДІ 0,02 – 0,10
BoP, %	29,5	15,9	13,0	-

Примітка: в таблиці наведені кількості і пропорції обстежених ділянок. Всі p отримано методом χ^2 : R×C та 2×2 таблиці. Клямри відображають між якими стовпцями/термінами проведено порівняння.

Загалом, кровоточивість при пробі зменшувалась впродовж обох 3х місячних інтервалів періоду дослідження достовірно після додаткового до періодонтальної терапії курсу EGCg.

У звичних одиницях, середній індекс кровоточивості 13%, у групі на кінець спостереження був навіть нижче бажаного порогового (для колишніх курців

значення 23% вважається пороговим, тоді як для курців це значення становить 16%) [222].

I, нарешті, вивчення динаміки змін індексу зубного нальоту, який також підлягав статистичній обробці у вигляді пропорцій (зубна бляшка +/-), показав достовірні зміни у вигляді зменшення кількості ділянок із зубним нальотом, і, відповідно, збільшення ділянок без нальоту, що демонструє Рис. 3.29 і Табл. 3.15.

У звичних одиницях, середній індекс нальоту 43,8% на 6й місяць перевищував пороговий (20%, [201], Табл. 3.15).

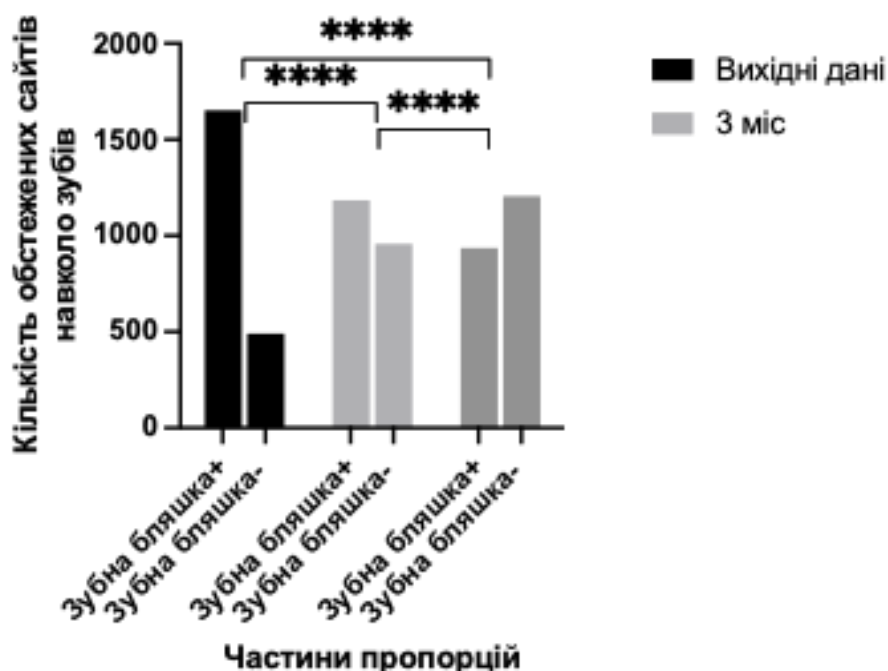


Рис. 3.2 Результати порівняння пропорцій ділянок вкритих зубними нальотом у першій групі із додатковим курсом EGCg між термінами дослідження; результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p < 0,0001$.

Таблиця 3.15

Результати порівняння пропорцій ділянок з зубним нальотом у пацієнтів першої групи між термінами спостереження та середній індекс нальоту

-	Вихідні дані (n=14)	3 міс	6 міс	p, χ^2
Зубна бляшка +/-	1667 / 505	1199 / 973	951 / 1221	p< 0,0001
-	p< 0,0001		-	Атрибутивний ризик 0,24 95% ДІ 0,21 - 0,27
-	p< 0,0001			Атрибутивний ризик 0,34 95% ДІ 0,32 - 0,37
-	-	p< 0,0001		Атрибутивний ризик 0,11 95% ДІ 0,08 - 0,14
Індекс зубного нальоту, %	76,7	55,2	43,8	-

Оцінка балів, набраних анкетуванням у цій групі показала динаміку покращення згідно саморепортування, і достовірність цих змін вловлена на 3й і 6й місяці обстеження, порівняно з вихідними даними (Табл. 3.16).

Таблиця 3.16

**Результати порівняння балів, набраних анкетуванням, у пацієнтів
першої групи між термінами спостереження (n=14)**

	Вихідні дані	3 міс	6 міс	p
--	-----------------	-------	-------	---

Сума балів, набраних анкетуванням	230	61	55	$p < 0,0001$ (χ^2 тест, R×C табл.)
3 784 можливих балів				
-	$p < 0,0001$		-	Атрибутивний ризик 0,36 95% ДІ 0,30 - 0,41
-	$p < 0,0001$			Атрибутивний ризик 0,38 95% ДІ 0,32 to 0,43
-	-	$p = 0,56$ НД		-

Примітка: в таблиці наведені частини для пропорцій у вигляді набраних та можливих балів, передбачених анкетною. Всі p отримано методом χ^2 : R×C та 2×2 таблиці. Клямри відображають між якими стовпцями/термінами дослідження проведено порівняння. НД – не достовірно.

На Рис. 3.30 простежується зменшення пропорції балів, набраних в результаті анкетування на 3й і 6й місяці.

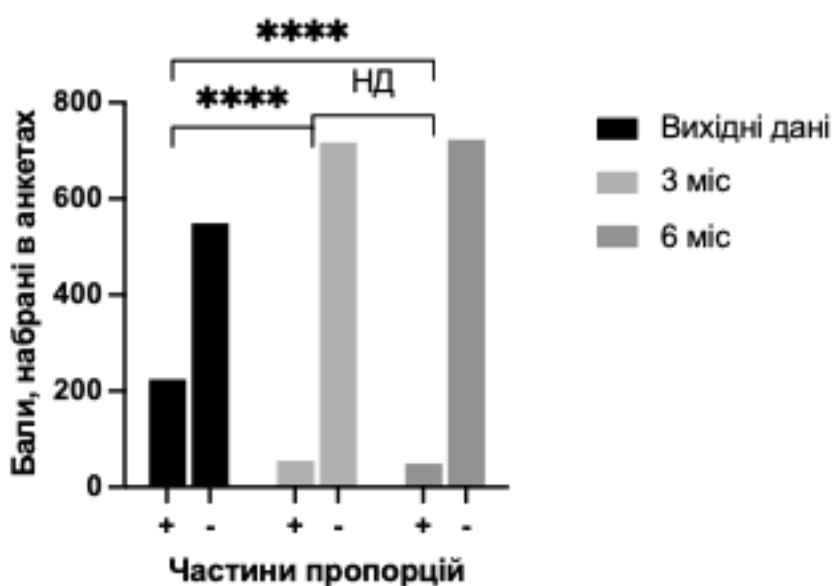


Рис. 3.30 Результати порівняння анкетування, у вигляді співвідношень набраних балів до решти з кількості можливих, у пацієнтів першої групи між термінами спостереження; результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p < 0,0001$.

3.4.2. Зміни рівнів експресії міРНК у відповідь на додатковий прийом епігалокатехін галату. Оцінка передбачала порівняння експресії комплексу міРНК в тканинах ясен в періоди 3 та 6 місяців після початку курсу EGCg, тобто у пацієнтів першої групи.

Через 3 місяці після початку прийому EGCg, рівні міРНК 138-5p достовірно підвищувались (скориговане $p = 0,0138$, Friedman test), при порівнянні медіан. Але через 6 місяців статистичний метод вловив достовірне зниження рівнів експресії ($p = 0,0002$), і ці зміни тепер статистично не відрізнялись від початкових значень (Рис. 3.31 а). Індивідуальні значення 2х осіб показали зниження під час T2 і подальше зниження під час T3 (Рис. 3.31 б).

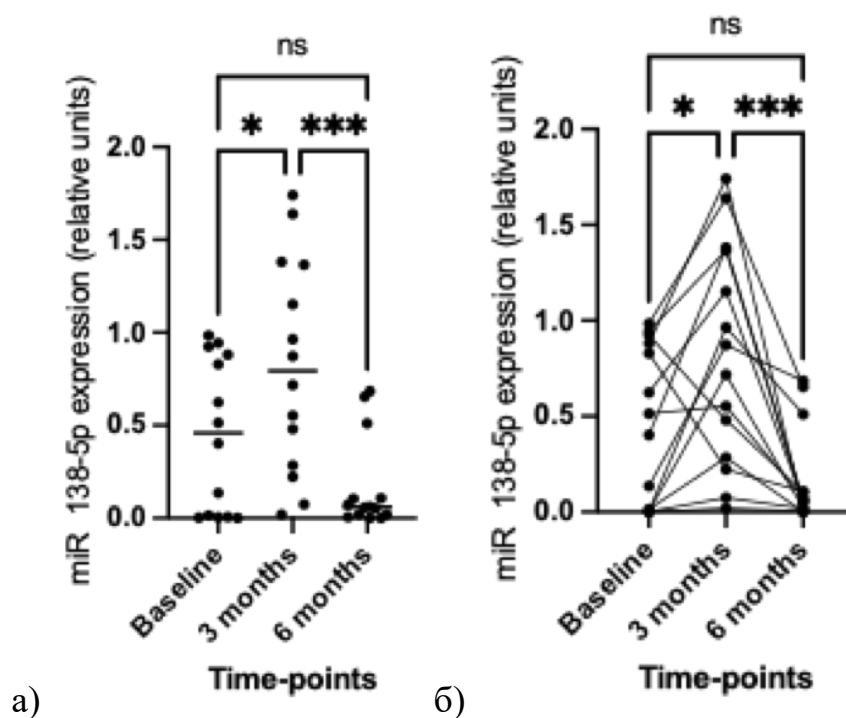


Рис. 3.31 Результати порівняння рівнів експресії міРНК 138-5p тканин ясен у першій групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

(а) індивідуальні показники і медіани;

(б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR-... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: T1 - Baseline, вихідні дані, T2 – 3-місячний контроль, T3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Після курсу EGCg, через 3 місяці, рівні міРНК 155-5p тканин ясен достовірно підвищувались ($p=0,0039$, Friedman test), але пізніше дещо знижувались, і достовірність більше не вловлювалась при статистичній обробці, в тому числі і порівняно з вихідними значеннями при порівнянні медіан (Рис. 3.32 а). Аналогічна тенденція змін продемонстрована для всіх окрім двох індивідуальних траєкторій (Рис. 3.32 б)

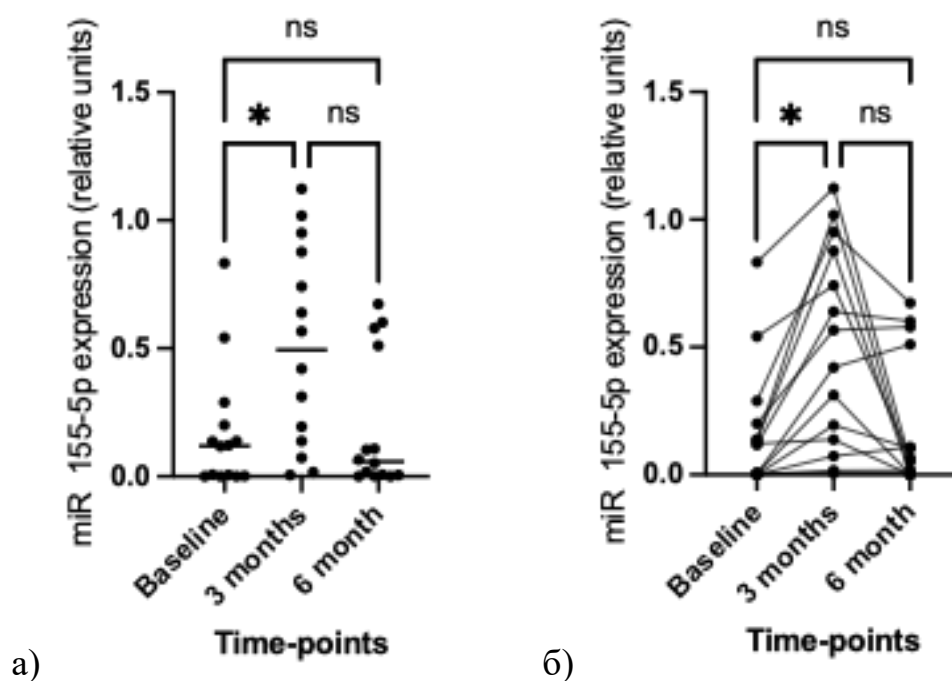


Рис. 3.32 Результати порівняння рівнів експресії 155-5p тканин ясен у першій групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

(а) індивідуальні показники і медіани;

(б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR-... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: T1 - Baseline, вихідні дані, T2

– 3-місячний контроль, Т3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Достовірність змін рівнів експресії міРНК 29b-3р тканин ясен не були вловлені статистичним аналізом що помітно для медіан (Рис. 3.33 а). За індивідуальними траєкторіями у чотирьох осіб простежується явне підвищення під час Т2 і зниження під час Т3, і у чотирьох – явно протилежні зміни, що може слугувати одним з пояснень таких результатів статистичного порівняння (Рис. 3.33 б).

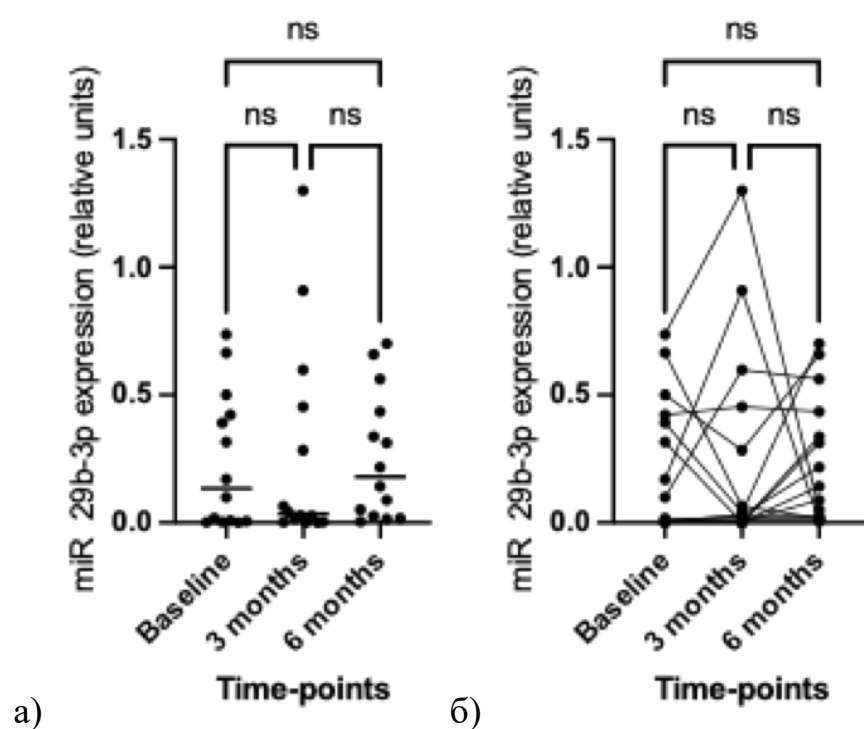


Рис. 3.33 Результати порівняння рівнів експресії 29b-3р тканин ясен у першій групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

- (а) індивідуальні показники і медіани;
- (б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR-... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: Т1 - Baseline, вихідні дані, Т2 – 3-місячний контроль, Т3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Рівні експресії міРНК 142-3р тканин ясен через 3 місяці після початку прийому EGCg підвищувались достовірно (скоригована $p=0,0184$, Friedman test), а на кінець спостереження були достовірно нижче, порівняно з даними 3 місяці (скориговане $p=0.0102$, Friedman test), що простежується за медіанами (Рис. 3.34 а). Однак, в цілому, на кінець спостереження, показники не досягали статистично достовірних відмін від початкових. Але три індивідуальні траєкторії показали зниженні під час Т2 і подальше зниження під час Т3, що має відмінний напрямок, ніж для медіан групових значень (Рис. 3.34 б).

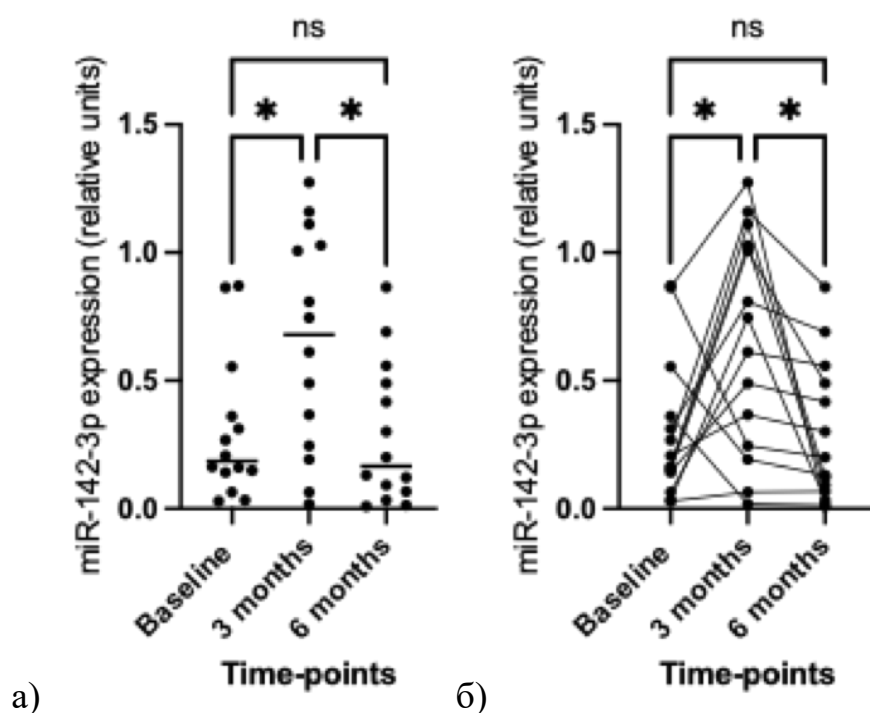


Рис. 3.34 Результати порівняння рівнів експресії 142-3р тканин ясен у першій групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

- (а) індивідуальні показники та медіани;
- (б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR-... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: T1 - Baseline, вихідні дані, T2 – 3-місячний контроль, T3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Зміни рівнів експресії міРНК 27a-3p тканин ясен через 3 місяці після початку лікування із додатковим системним призначенням EGCg показав деяке підвищення медіани, порівняно із початковими значеннями але не достовірно; а далі, на 6 місяць, достовірно зниження, порівняно з даними на 3 місяці (скориговане $p=0,0138$, Friedman test). Загалом, при порівнянні значень на початку і наприкінці спостереження не вловили достовірних відмінностей (Рис. 3.35 а). Але три індивідуальні траєкторії показували зниження на кожний термін, і одна – зниження під час Т2 і підвищення під час Т3 (Рис.3.35 б).

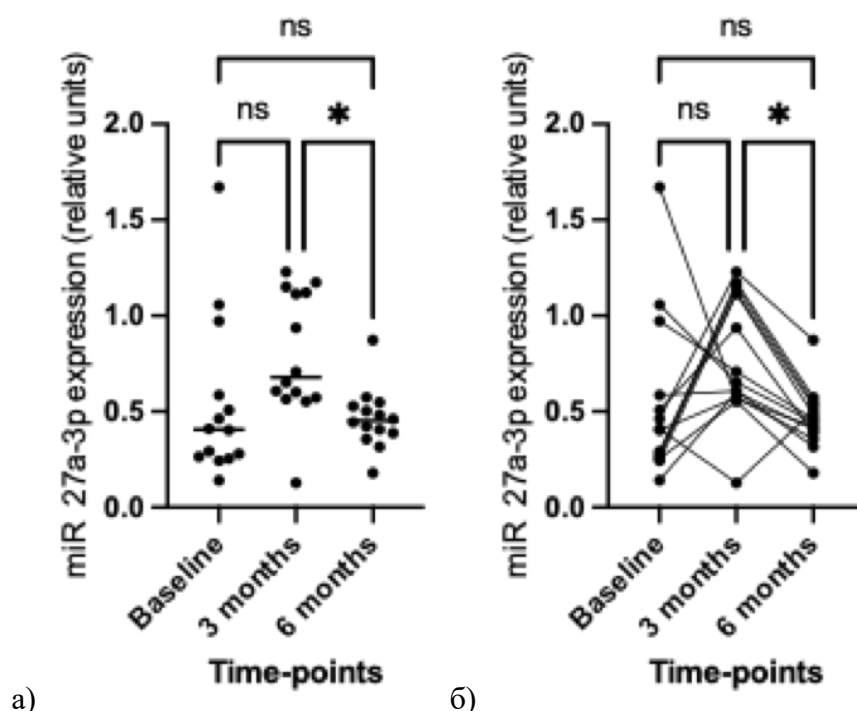


Рис. 3.35 Результати порівняння рівнів експресії 27a-3p тканин ясен у першій групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

- (а) індивідуальні показники і медіани;
- (б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR-... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: Т1 - Baseline, вихідні дані, Т2 – 3-місячний контроль, Т3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Загальна динаміка всіх міРНК у групі EGCg показала підвищення через 3 міс і зниження через 6, з різними ступенями достовірності. Окремі індивідуальні значення показували протилежні чи відмінні до динаміки медіан напрямки змін.

Між дослідженими міРНК виявлено 2 корелятивні зв'язки, виявлені під час T2, і ще ряд прямих кореляцій (Спірмена) – під час T3, які підсумовано нижче:

T2: 155-5p і 138-5p $r = 0,77$, $p = 0,02$

138-5p і 29b-3p $r = 0,57$, $p = 0,04$

T3: 138-5p і 142-3p $r = 0,71$, $p = 0,005$

155-5p і 138-5p $r = 0,57$, $p = 0,003$

29b-3p і 138-5p $r = 0,71$, $p = 0,006$

29b-3p і 142-3p $r = 0,9$, $p < 0,0001$

29b-3p і 155-5p $r = 0,74$, $p = 0,003$

29b-3p і 27a-3p $r = 0,67$, $p = 0,01$

27a-3p і 142-3p $r = 0,77$, $p = 0,002$

3.4.3. Зміни рівнів експресії цитокінів ясен у відповідь на додатковий прийом епігалокатехін галату. Згідно дизайну дослідження, результати визначення ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-10 і TGF- β першої групи порівнювали непараметричними методами між термінами дослідження – до лікування і на 6й місяць після його початку, тобто під час T3 точки дослідження. На Рис. 3.36 показано результати цих порівнянь.

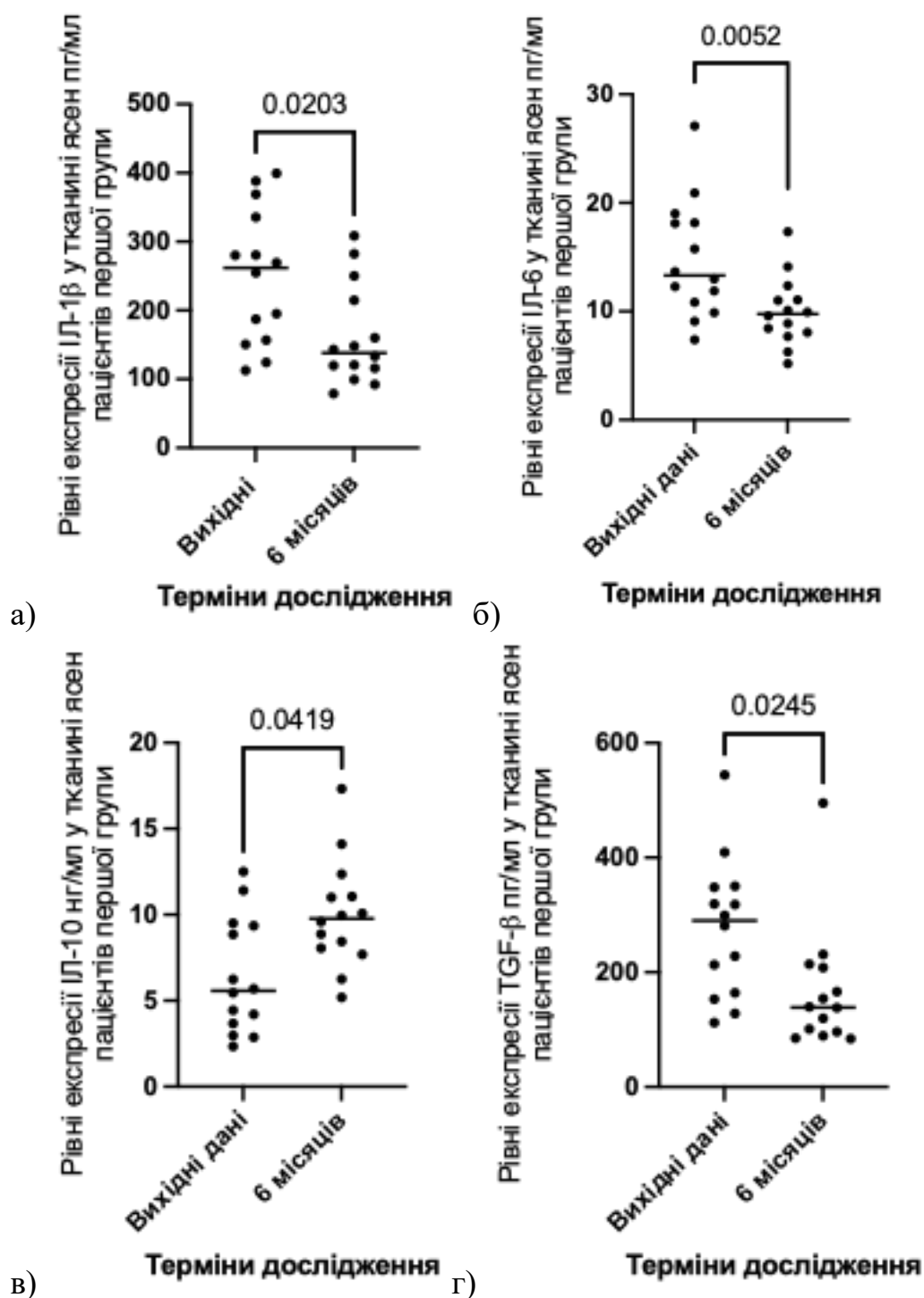


Рисунок 3.36 Результати порівняння рівнів цитокінів у першій групі (до та після періодонтального лікування із додатковим курсом EGCg), парний тест Вілкоксона:

- (а) достовірне зниження рівнів ІЛ-1 β ;
- (б) достовірне зниження ІЛ-6;
- (в) достовірне підвищення ІЛ-10;
- (г) достовірне зниження TGF- β .

Результати показали що через 6 місяців після періодонтальної терапії і початку 60-денного курсу прийому епігалокатехін галату (Green Tea Extract EGCg, Now Foods, США) по 400 мг на день, рівні ІЛ-1 β , ІЛ-6 та TGF- β були достовірно знижені, а рівні ІЛ-10 тканини ясен – достовірно знижені, порівняно з вихідними рівнями до лікування ПД.

3.5 Зміни клінічних параметрів і молекулярних маркерів як оцінка ефективності додаткового прийому куркуміну до стандартної періодонтальної терапії

3.5.1. Зміни клінічних параметрів як оцінка ефективності додаткового прийому куркуміну. Пацієнтам другої групи спочатку проводили консервативне періодонтальне лікування і одночасно розпочинали двомісячний курс прийому куркуміну (Turmeric Curcumin 1000 mg with Bioperine, Puritan's Pride, США) по 1 капсулі на день, як описано в Розділі 2.

Простежуючи динаміку співвідношень глибинних вимірювань у трьох категоріях (PPD1-3 мм / 4-5 мм / ≥ 6 мм), встановлено достовірні відміни між цими пропорціями (Рис. 3.37).

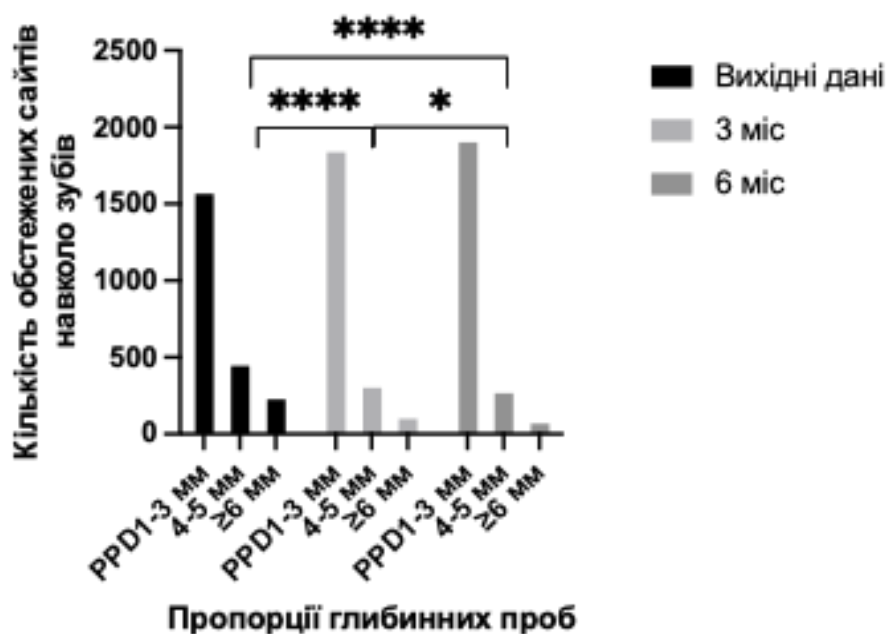


Рис. 3.37 Результати порівняння співвідношень трьох категорій періодонтальних глибин у другій групі, із додатковим курсом прийому куркуміну, між точками дослідження; результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p < 0.0001$.

Детальний аналіз встановив достовірні зміни в цих співвідношеннях через 3 місяці в цій групі, через 6 місяців, порівняно з вихідними даними, а також між термінами 3 і 6 місяців (Табл. 3.17).

Порівняння пропорції глибоких ділянок (≥ 6 мм) з сумою інших глибин (PPD1-5 мм) показало основні зміни за перший квартал на 25-26% в середньому (атрибутивний ризик 0,25 і 0,26 при порівнянні вихідних даних і даних через 3 міс., та через 6 міс., та зміни, при яких не вловлена достовірність між 3м і 6м місяцями (Рис. 3.38 і друга половина таблиці 3.17).

Таблиця 3.17

Результати порівняння співвідношень періодонтальних глибин пацієнтів другої групи в залежності від терміну спостереження

	Вихідні дані (n=14)	3 міс	6 міс	p, χ^2

PPD1-3 мм / 4-5 мм / ≥6 мм	1584/ 463/ 245	1856/ 319/ 117	1920/ 285/ 87	p<0,0001
-	p<0,0001			-
-	-	p=0,025		-
PPD ≥6 мм / 1-3 + 4-5 мм	245 / 2047	117 / 2775	87 / 2205	p<0,0001
-	p<0,0001		-	Атрибутивний ризик 0,25; 95% ДІ 0,20 - 0,31
-	p<0,0001			Атрибутивний ризик 0,26; 95% ДІ 0,21 - 0,31
-	-	p=0,65, НД		-

Примітка: в таблиці наведені кількості і пропорції обстежених ділянок. Всі р отримано методом χ^2 : R×C та 2×2 таблиці. Клямра відображає між якими стовпцями/термінами дослідження проведено порівняння. НД – статистично не достовірно.

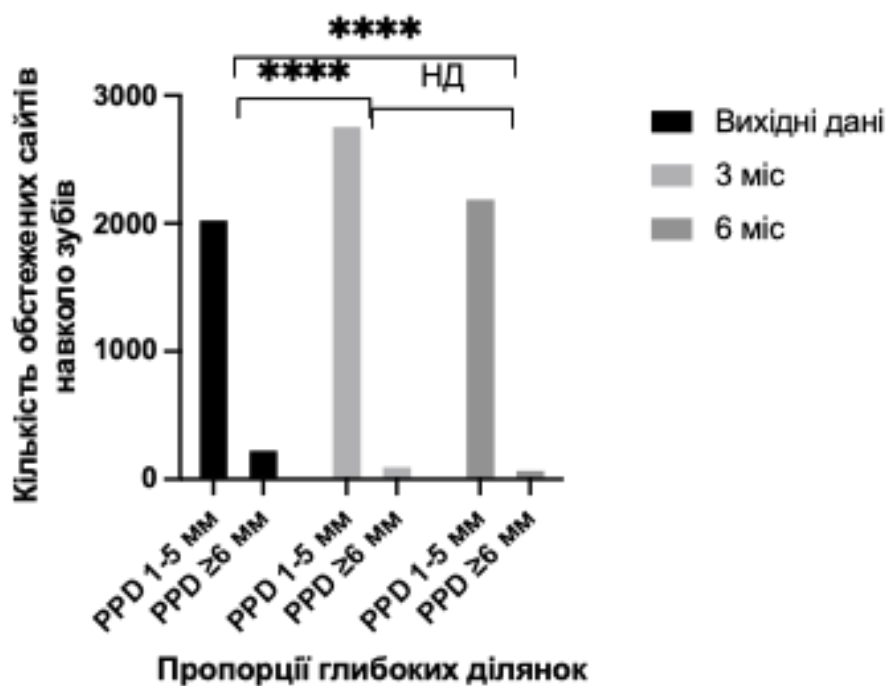


Рис. 3.38 Результати порівняння пропорцій глибоких від усіх інших періодонтальних глибин у другій групі, з додатковим курсом куркуміну; результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p < 0,0001$.

Всі разом, ці зміни відображають процес зменшення глибин періодонтальних проб після лікування.

Аналіз співвідношень рівнів клінічного прикріплення ($CAL \geq 3\text{mm} / \geq 4\text{mm}$) у пацієнтів другої групи вловив статистично значущі зміни після лікування (Рис. 3.39, $p = 0,028$).

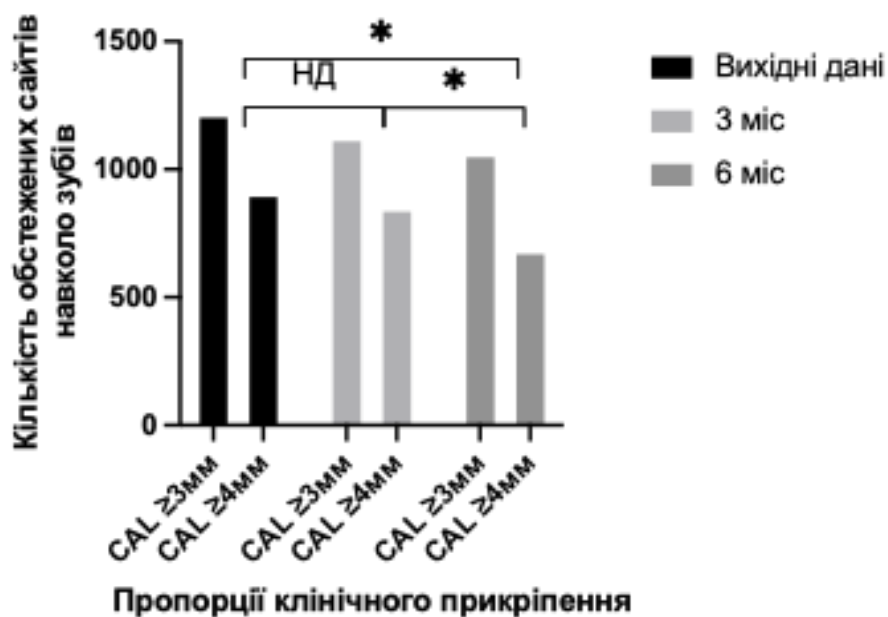


Рис. 3.39 Результати порівняння змін пропорцій різних рівнів клінічного прикріплення у другій групі, з додатковим курсом куркуміну, результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p=0,028$.

Таблиця 3.18

Результати порівняння пропорцій клінічного прикріплення у пацієнтів другої групи в залежності від терміну спостереження

	Вихідні дані (n-14)	3 міс.	6 міс.	p, χ^2
CAL ≥3 мм / ≥4 мм	1213/ 903	1120/ 846	1058/ 679	p=0.028
-	p=0,82 НД		-	-
-	p=0,024			Атрибутивний ризик 0,04; 95% ДІ 0,005 - 0,07
-	-	p=0,015		Атрибутивний ризик 0,04; 95% ДІ 0,008 - 0,07

Зменшення втрати клінічного прикріплення, коли була вловлена достовірність – це бй місяць, порівняно вихідними даними і з 3м місяцем (Табл. 3.18).

Аналіз динаміки змін індексу кровоточивості, який також підлягав статистичному порівнянню пропорцій (BoP +/-), показав достовірні зміни (Табл. 3.19) у вигляді зменшення кількості кровоточивих сайтів і, відповідно, збільшення сайтів без кровоточивості, що демонструє Рис. 3.40.

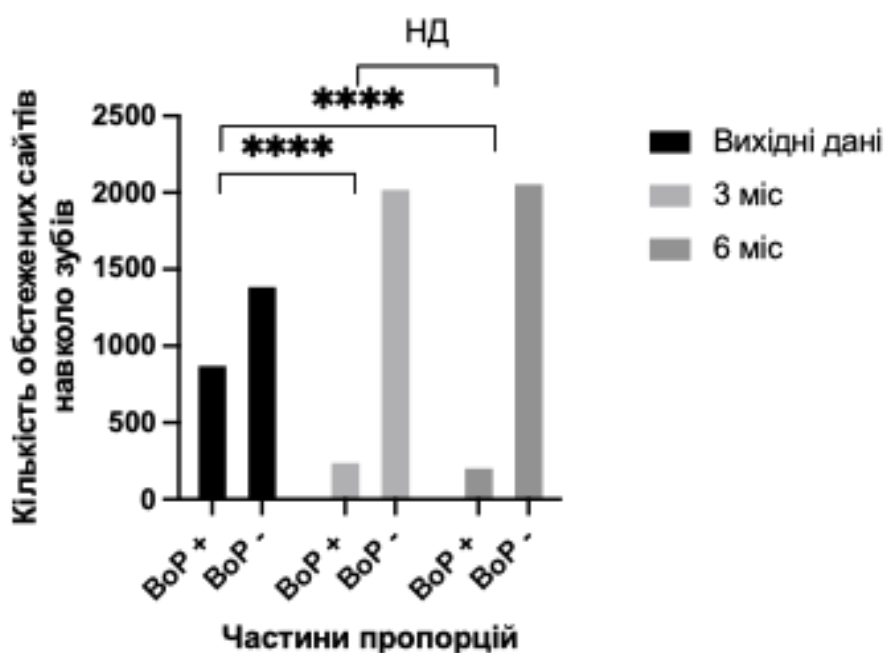


Рис. 3.40 Результати порівняння динаміки пропорції кровоточивих сайтів у пацієнтів другої групи, результати тесту χ^2 (RxC таблиця) $p < 0,0001$.

Таблиця 3.19

Результати порівняння пропорцій ділянок з кровоточивістю при пробі у пацієнтів другої групи, в залежності від терміну спостереження та середній відсоток індексу BoP

-	Вихідні дані (n=14)	3 міс	6 міс	p, χ^2
---	------------------------	-------	-------	-------------

BoP +/-	889/ 1403	256/ 2036	220/ 2072	p<0,0001
-	p< 0,0001		-	Атрибутивний ризик 0,37 95% ДІ 0,34 to 0,40
-	p< 0,0001			Атрибутивний ризик 0,398 95% ДІ 0,37 - 0,43
-	-	p=0,08 НД		-
BoP, %	38,8	11,2	9,6	-

Примітка: в таблиці наведені кількості і пропорції обстежених ділянок. Всі p отримано методом χ^2 : R×C та 2×2 таблиці. Клямри відображають між якими стовпцями проведено порівняння. НД – статистично не достовірно.

Індекс кровоточивості при пробі у другій групі знижувався достовірно на 3й місяць і залишався на зниженому рівні на 6й (Табл. 3.19). З 3го місяці до кінця дослідження він становив нижче (9,6%), ніж рекомендоване порогове значення при пародонтиті (16%, [222]).

І, нарешті, вивчення динаміки змін індексу зубного нальоту, який також підлягав статистичній обробці у вигляді пропорцій (зубний наліт +/-), показав достовірні зміни у вигляді зменшення кількості сайтів з нальотом і, відповідно, збільшення сайтів без видимих зубних відкладень, що демонструє Рис. 3.41 і Табл. 3.20.

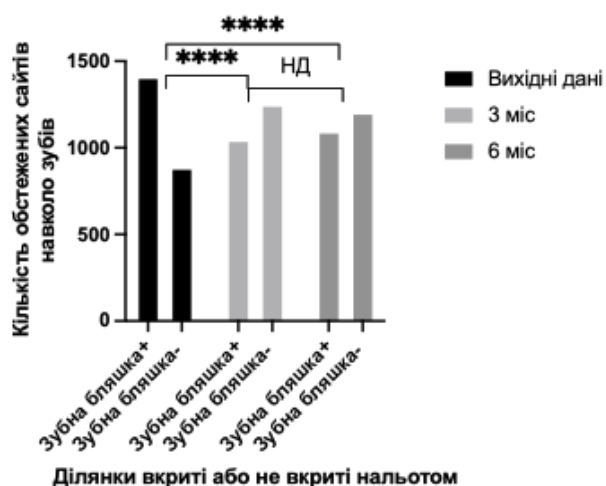


Рис. 3.41 Результати порівняння пропорцій ділянок із зубною бляшкою у пацієнтів другої групи, між точками дослідження, результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p < 0,0001$.

Таблиця 3.20

Результати порівняння пропорцій ділянок вкритих зубним нальотом у пацієнтів другої групи в залежності від терміну спостереження та середній індекс зубного нальоту/бляшки

-	Вихідні дані (n=14)	3 міс	6 міс	p, χ^2
Зубна бляшка +/-	1835/313	1044 / 1248	1092 / 1200	$p < 0,0001$
-	$p < 0,0001$			Атрибутивний ризик 0,16 95% ДІ 0,13 - 0,19
-	$p < 0,0001$			Атрибутивний ризик 0,14 95% ДІ 0,11 - 0,17
-	-	$p = 0,16$ НД		-

Індекс зубної бляшки, %	80,0	45,6	47,7	-
----------------------------	------	------	------	---

У звичних одиницях, середній індекс нальоту 47,7 % на 6й місяць перевищував рекомендований пороговий (20% [201, 222]) (Табл. 3.20).

Оцінка балів, набраних анкетуванням у другій групі показала динаміку покращення згідно саморепортування (Табл. 3.21). На 3й та 6й місяці скарги пацієнтів у балах були достовірно нижче: на 32 та 34 % відповідно, порівняно з вихідними даними (атрибутивний ризик 0,32 та 0,34 відповідно). Але між 3м та 6м місяцями різниця не досягала статистичної достовірності (Табл. 3.12).

Таблиця 3.21

**Результати порівняння балів, набраних анкетуванням, у пацієнтів
другої групи між термінами спостереження (n=14)**

	Вихідні дані	3 міс	6 міс	p (χ^2 тест, R×C табл.)
Сума балів, набраних анкетуванням	228	21	65	p<0,0001
3 784 можливих балів				
-	p<0,0001		-	Атрибутивний ризик 0,32 95% ДІ 0,26 - 0,38
-	p<0,0001			Атрибутивний ризик 0,34 95% ДІ 0,28 - 0,40
-	-	p=0,59 НД		-

Примітка: в таблиці наведені частини для пропорцій у вигляді набраних та можливих балів, передбачених анкетною. Всі р отримано методом χ^2 : R×C та 2×2 таблиці. Клямри відображають між якими стовпцями проведено порівняння. НД – не достовірно.

Графік даних анкети відображає зниження набраних балів, які відповідають рівню скарг, на 3й і на 6й місяці (Рис. 3.43, перші стовпці, позначені «+» у парах).

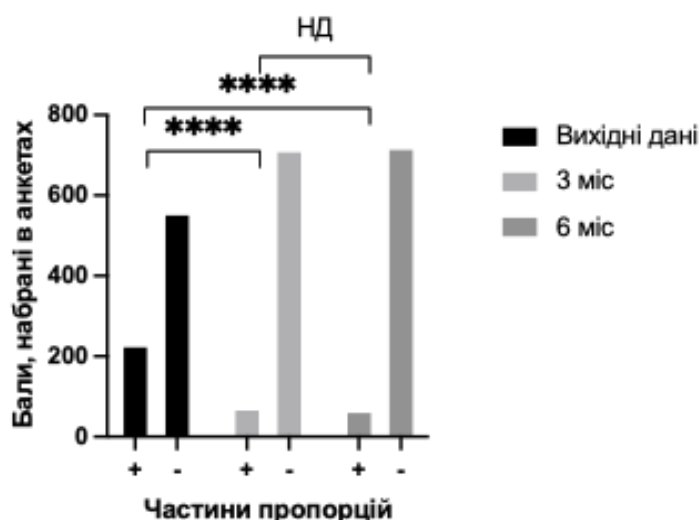


Рис. 3.42 Результати порівняння балів анкетування пацієнтів другої групи між точками дослідження, результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p < 0,0001$.

3.5.2. Зміни рівнів експресії міРНК у відповідь на додатковий прийом куркуміну. Експресію комплексу міРНК ясен у пацієнтів другої групи визначали під час T2 і T3 точок дослідження і порівнювали ще і з T1 за допомогою тесту χ^2 .

Після курсу застосування курсу куркуміну, рівні міРНК 138-5p достовірно знижувались відразу після закінчення курсу прийому (скориговане $p=0,024$, Friedman test). І знову підвищувались, з медіаною трохи нижче ніж до початку втручання, але тепер достовірність не була вловлена статистично. Наприкінці спостереження дані не відрізнялись від вихідних, що відображено медіанами (Рис. 3.43 а). Індивідуальна траєкторія змін у однієї особи показала підвищенні під час T2 і зниження під час T3, і ще у двох невелике підвищення зареєстроване під час T2 і, далі ще підвищення під час T3; ще у одному випадку після T2 відзначався

різкий підйом під час Т3, який виглядав як outlier, і очевидно міняв статистику як недостовірну між Т1 і Т3 (Рис. 3.43 б). Загалом, значення залишались зниженими до кінця дослідження.

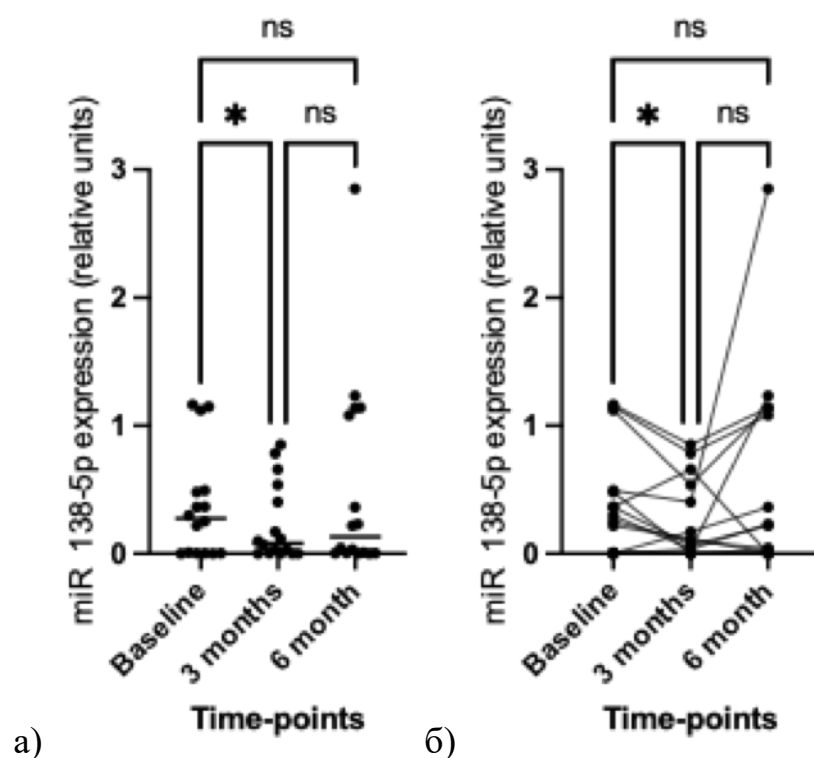


Рис. 3.43 Результати порівняння рівнів експресії міРНК 138-5р тканин ясен у другій групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

- (а) індивідуальні показники й медіани;
- (б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: Т1 - Baseline, вихідні дані, Т2 – 3-місячний контроль, Т3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Рівні експресії міРНК 155-5р у тканинах ясен достовірно знижувались на візит 3 місяці (скоригована $p=0,024$). І знову підвищувались на візит 6 місяців, з медіаною трохи нижче ніж до початку втручання, але тепер достовірність не була вловлена статистично. Наприкінці спостереження дані не відрізнялись від вихідних

(Рис. 3.44 а). Дві індивідуальні траєкторії значень мали напрямок змін у вигляді підвищення під час Т2 і подальше підвищення під час Т3 (рис. 3.44 б).

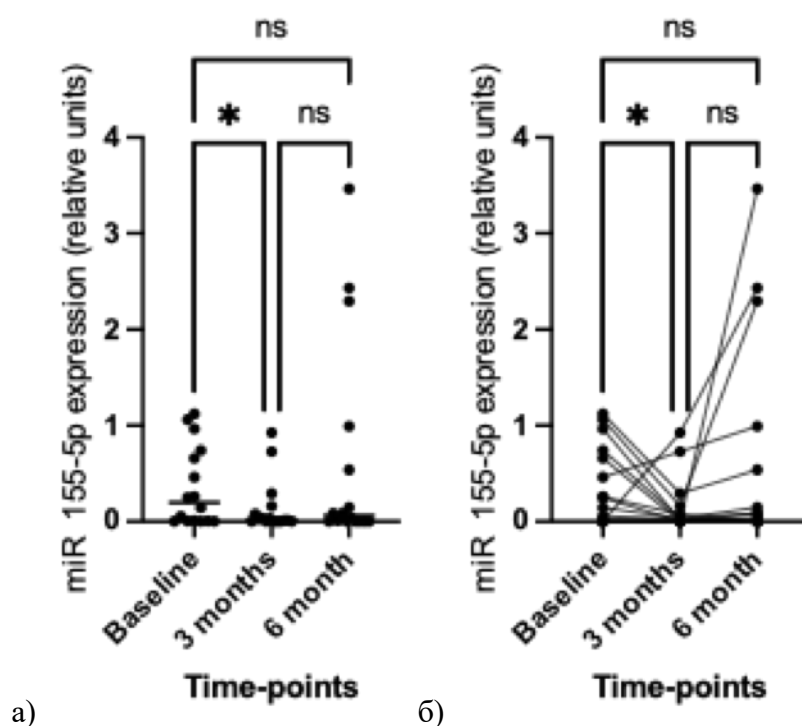


Рис. 3.44 Результати порівняння рівнів експресії міРНК 155-5р тканин ясен у другій групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

- (а) індивідуальні показники та медіани;
- (б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: Т1 - Baseline, вихідні дані, Т2 – 3-місячний контроль, Т3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Рівні експресії міРНК 29b-3р у тканинах ясен дещо знижувались на візит 3 місяці, але статистика не вловила достовірність. І достовірно підвищувались на візит 6 місяців ($p < 0,0001$, Friedman test), з медіаною вище ніж до початку втручання (Рис. 3.45 а). Одне індивідуальне значення показало поетапне збільшення під час Т2 і Т3 (Рис. 3.45 б).

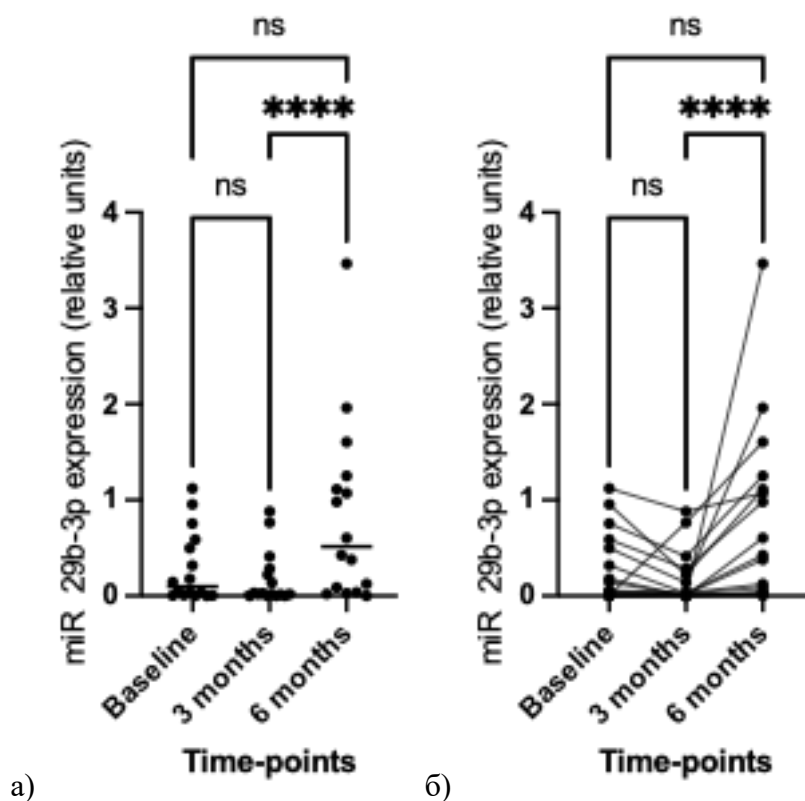


Рис. 3.45 Результати порівняння рівнів експресії міРНК 29b-3p тканин ясен у другій групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

- (а) індивідуальні показники і медіани;
- (б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: T1 - Baseline, вихідні дані, T2 – 3-місячний контроль, T3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

При порівнянні експресії міРНК 142-3p у тканинах ясен, статистичний аналіз не вловив достовірності (Рис. 3.46). Індивідуальні дані були примітні у відношенні значно більшого розмаху даних під час T3 (Рис. 3.46 б).

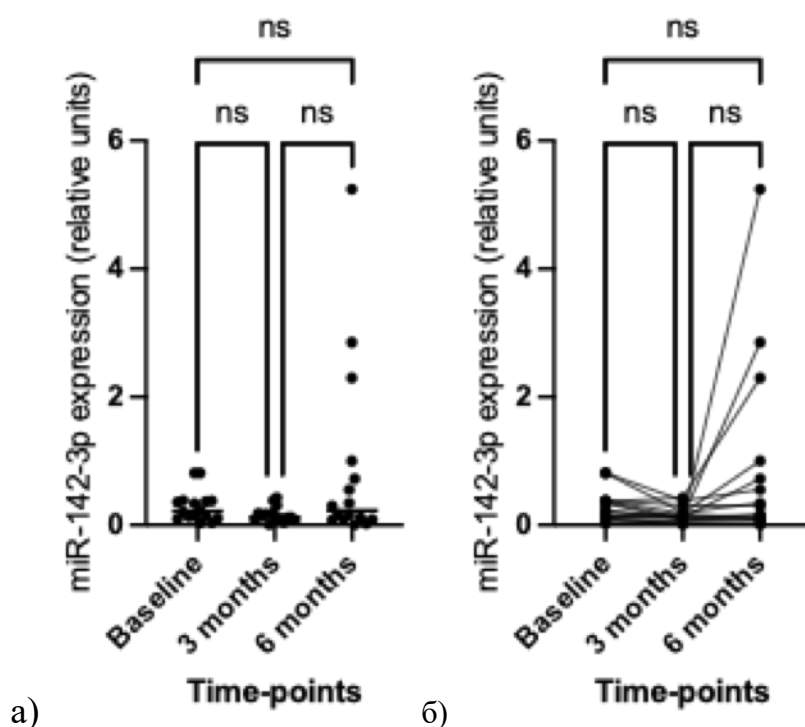


Рис. 3.46 Результати порівняння рівнів експресії міРНК 142-3р тканин ясен у другій групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

- (а) індивідуальні показники та медіани;
- (б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: T1 - Baseline, вихідні дані, T2 – 3-місячний контроль, T3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

I, нарешті, міРНК 27a-3р показала зниження рівнів на 3й місяць, порівняно з вихідними даними (скоригована $p < 0,0001$, Friedman test), а решта порівнянь – без статистичної достовірності (Рис. 3.47 а). Одна індивідуальна траєкторія показала виразне поетапне зниження під час T2 і T3, і одне значення на час T3 мало вигляд різкого підвищення як outlet (Рис. 3.47 б).

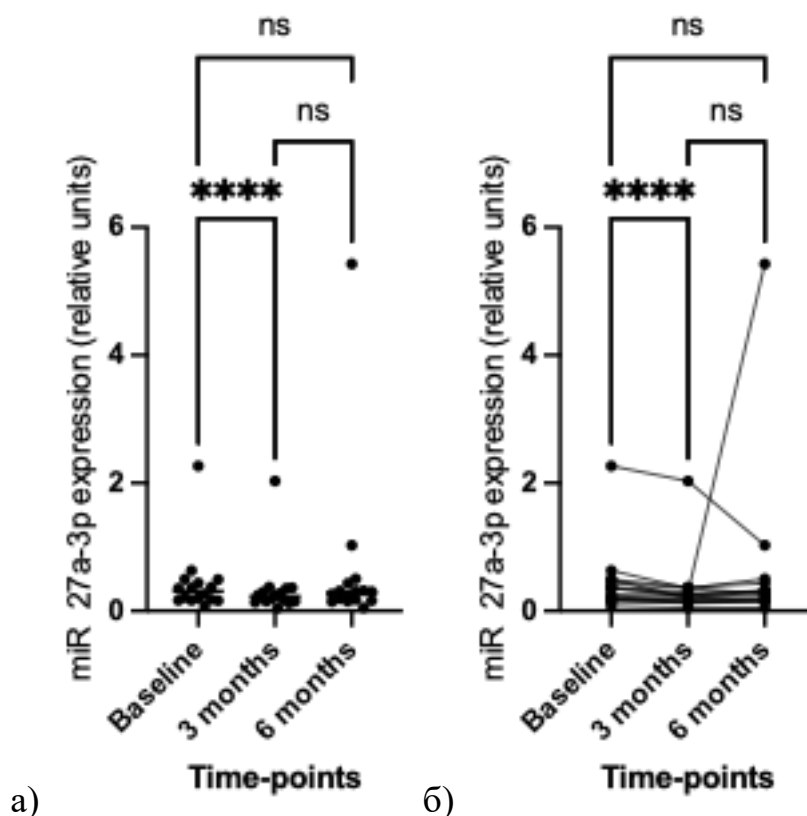


Рис. 3.47 Результати порівняння рівнів експресії міРНК 27а-3р тканин ясен у другій групі між термінами спостереження. Статистична обробка Friedman test (для попарно-пов'язаних перемінних):

- (а) індивідуальні показники та медіани;
- (б) індивідуальні показники з траєкторію змін.

Примітка: miR... expression (relative units) – експресія відповідної міРНК у відносних одиницях; Time-points – контрольні візити: T1 - Baseline, вихідні дані, T2 – 3-місячний контроль, T3- 6-місячний контроль; ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Кореляційний аналіз Спірмена показав три достовірних кореляції між міРНК під час T2 і п'ять кореляцій – під час T3, всі вони перелічені нижче:

T2: 155-5p і 138-5p $r = 0,74$, $p = 0,002$

29b-3p і 138-5p $r = 0,68$, $p = 0,005$

29b-3p і 155-5p $r = 0,78$, $p = 0,001$

T3: 155-5p і 138-5p $r = 0,79$, $p < 0,0001$

29b-3p і 138-5p $r = 0,87$, $p < 0,0001$

155-5p і 142-3p $r = 0,62$, $p = 0,01$

29b-3p і 142-3p $r = 0,63$, $p = 0,01$

29b-3p і 155-5p $r = 0,75$, $p = 0,001$.

3.5.3. Зміни рівнів експресії цитокінів у відповідь на додатковий прийом куркуміну. Згідно дизайну дослідження, результати визначення ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-10 і TGF- β порівнювали непараметричними методами між термінами дослідження – до лікування і на 6й місяць, після його початку, тобто під час ТЗ точки дослідження. На рис. 3.48 показано результати цих порівнянь.

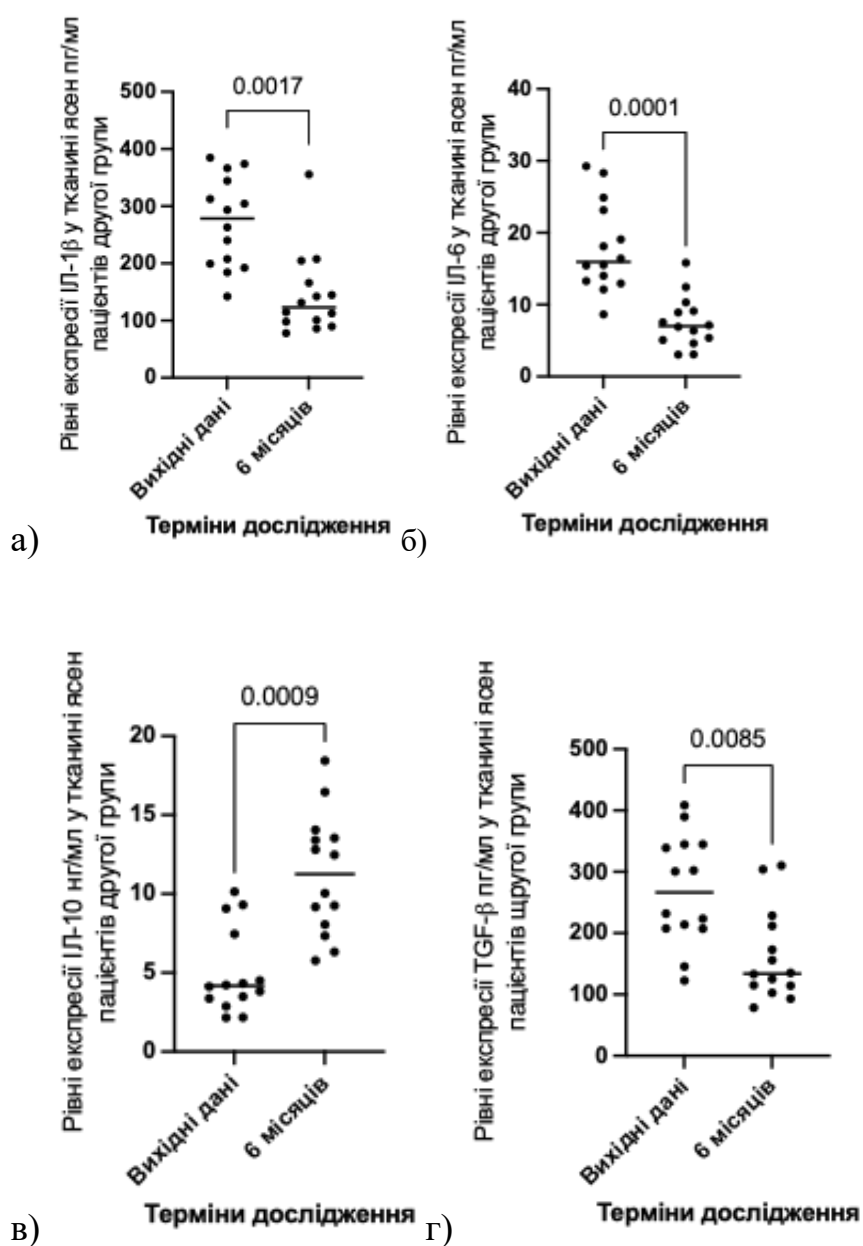


Рис. 3.48 Результати порівняння рівнів цитокінів у другій групі до та після періодонтального лікування із додатковим курсом куркуміну; парний тест Вілкоксона:

(а, б, г) достовірні зниження рівнів ІЛ-1 β , ІЛ-6 TGF- β ;

(в) достовірне підвищення ІЛ-10.

Результати показали що через 6 місяців після періодонтальної терапії і початку 60-денного курсу прийому куркуміну (Turmeric Curcumin with Bioperine, Puritan's Pride, США) 1000 мг на день, рівні ІЛ-1 β , ІЛ-6 та TGF- β були достовірно знижені, а рівні ІЛ-10 тканини ясен – достовірно підвищені, порівняно з вихідними рівнями.

3.6 Порівняння між групами дослідження клінічних параметрів і молекулярних маркерів після лікування пародонтиту

3.6.1. Порівняння клінічних даних між групами дослідження. Під час T2 точки дослідження, а саме, на третій місяць після почату лікування планували порівняння між первинними клінічними результатами трьох груп.

Всім пацієнтам у цей контрольний візит оновлювали дані періодонтограм, які слугували першоджерелом всіх сурогатних клінічних показників стану періодонту, а також проводили повторне анкетування.

Загалом пацієнти характеризувались клінічними покращенням, зокрема, загоєнням/закриттям кишень та зменшенням періодонтальних глибин, де були умови для цього, та щойно завершеним курсом додаткових призначень у першій та другій групах. Рівень закриття кишень і рівень зменшення глибоких кишень порівнювали окремо. Також, згідно даних анкетування, стан більшості пацієнтів покращувався, але порівняння покаже чи визначався ефект лікування на рівні сприйняття пацієнтом.

Порівняння пропорцій періодонтальних глибин показало достовірні відмінності між усіма групами (Рис. 3.49, Табл. 3.22).

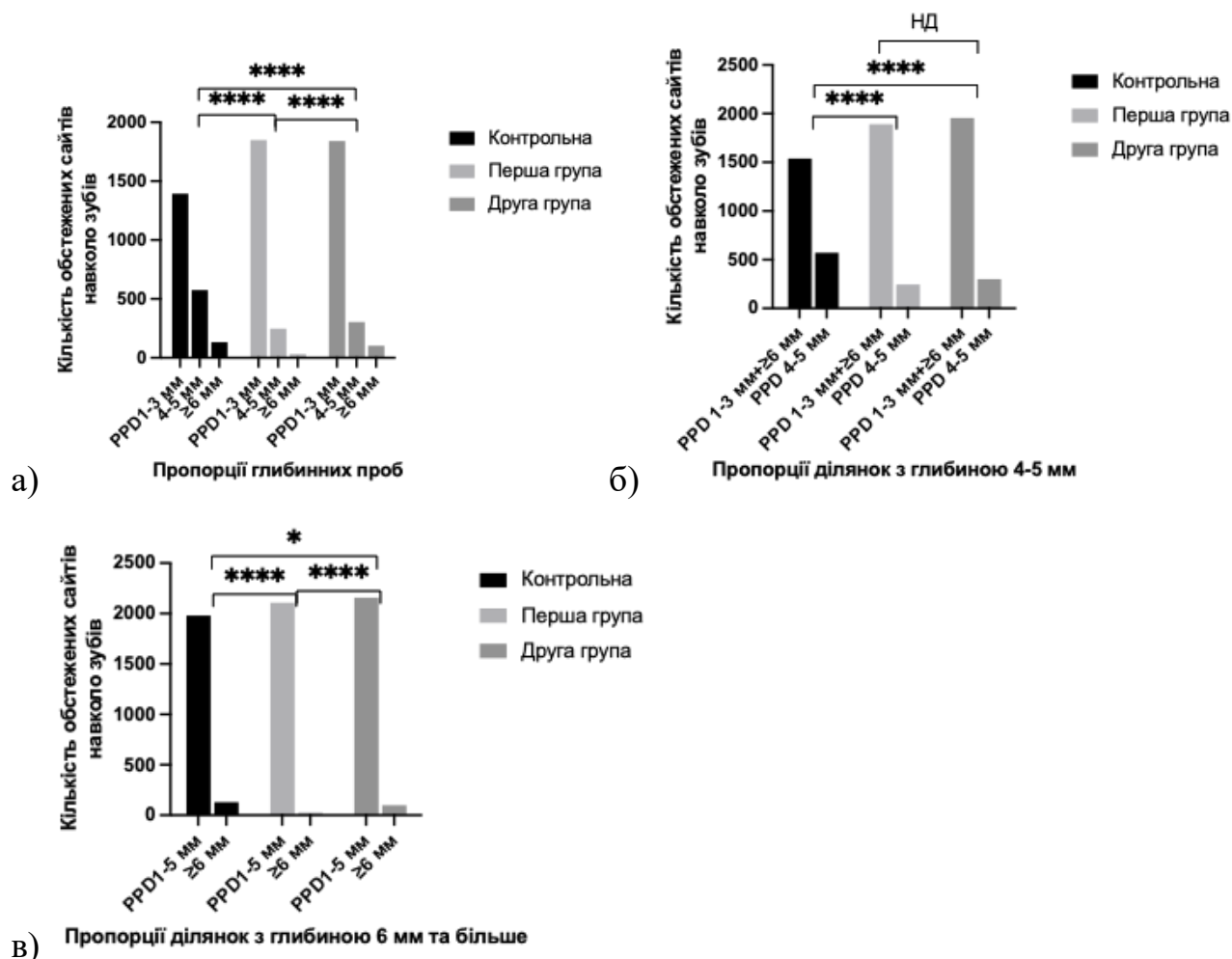


Рис. 3.49 Результати порівняння пропорцій періодонтальних глибин між групами дослідження під час Т2, результати всіх тестів χ^2 (R×C таблиця) $p < 0,0001$:

- (а) три категорії глибинних проб в пропорціях;
- (б) пропорції сайтів з глибиною 4-5 мм, порівняно з іншими глибинами;
- (в) пропорції глибоких сайтів ≥ 6 мм, порівняно з іншими глибинами.

Таблиця 3.22

Результати порівняння співвідношень періодонтальних глибин між групами під час Т2 точки дослідження

	Контрольна	Перша	Друга	р, χ^2
--	------------	-------	-------	-------------

PPD 1-3 мм / 4-5 мм / ≥6 мм	1409/ 591/ 148	1864/ 263/ 45	1856/ 319/ 117	p<0,0001
	p<0,0001			-
PPD ≥6 мм / 1-3 + 4-5 мм	148/ 2000	45/ 2127	117/ 2175	p<0,0001
-	p<0,0001		-	Атрибутивний ризик 0,28; 95% ДІ 0,22 - 0,35
-	p=0,012			Атрибутивний ризик 0,08; 95% ДІ 0,017 - 0,14
-	-	p<0,0001		Атрибутивний ризик 0,22; 95% ДІ 0,14 - 0,28
PPD 4-5 мм / 1-3мм + ≥6 мм	591/ 1557	263/ 1909	319/ 1973	p<0,0001
-	p<0,0001		-	Атрибутивний ризик 0,24; 95% ДІ 0,21 - 0,28
-	p<0,0001			Атрибутивний ризик 0,21; 95% ДІ 0,17 - 0,24
-	-	p=0,07 НД		-

Примітка: в таблиці наведені кількості і пропорції обстежених ділянок. Всі р отримано методом χ^2 : R×C та 2×2 таблиці. Клямра відображає між якими стовпцями проведено порівняння. НД – статистично не достовірно.

Таким чином, після всіх порівнянь, на 3й місяць, практично відразу після лікування, відносно неглибокі ділянки мали меншу пропорцію у першій і другій групах (з додатковими курсами EGCG і куркуміну), порівняно з контрольною групою. Тобто сайтів з глибиною 4-5 мм залишалось достовірно менше в першій групі – на 24% (95% ДІ 21-28), та у другій – на 21% (95% ДІ 17-24), порівняно з контрольною групою (Табл. 3.22, відповідно розрахованим середнім атрибутивним ризикам і конфіденційним інтервалам).

Число глибоких ділянок (6 мм та більше) було достовірно менше у першій групі, порівняно з обома іншими групами (на 28% порівняно з контрольною, і на 22% порівно з другою групою). Відповідно, у другій групі таких сайтів було на 8% менше ніж у контрольній, але на 22% більше, ніж у першій групі (що показано атрибутивними ризиками у Табл. 3.22).

Для порівняння пропорцій з різною клінічною втратою періодонту було побудовано графік для наглядного подання даних (Рис. 3.50), і таблицю щоб помістити всі дані статистичного аналізу (Табл. 3.23).

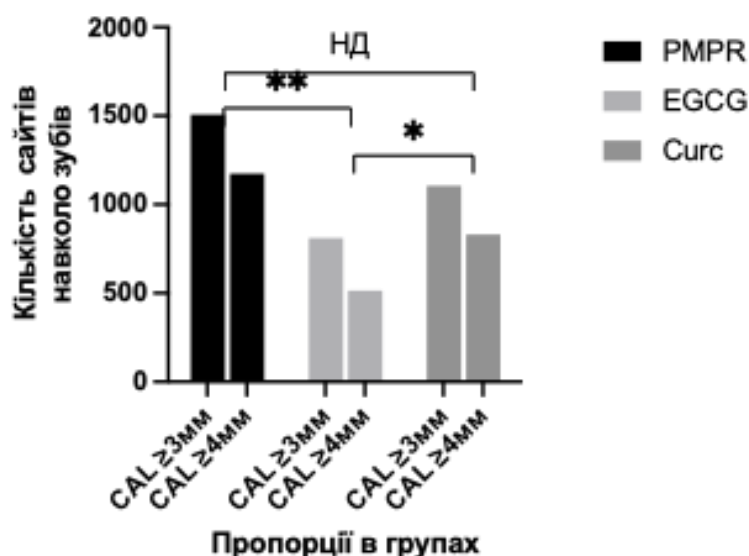


Рис. 3.50 Результати порівняння пропорцій клінічного прикріплення між групами під час T2 точки дослідження, результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p=0,012$.

Таблиця 3.23

**Результати порівняння пропорцій клінічного прикріплення
між групами під час T2 точки дослідження**

	Контрольна	Перша	Друга	p, χ^2
CAL ≥ 3 мм / ≥ 4 мм	1522/ 1189	826/ 529	1120/ 846	$p=0,012$
-	$p=0,0034$		-	Атрибутивний ризик 0,04; 95% ДІ 0,01 - 0,07
-	$p=0,57$ НД			-
-	-	$p=0,02$		Атрибутивний ризик 0,04; 95% ДІ 0,005 - 0,074

Після порівнянь, пропорція CAL ≥ 3 мм / ≥ 4 мм у першій групі лише трохи – 4% (відповідно до атрибутивних ризиків, Табл. 3.23) відрізнялась, а саме, була меншою, порівняно з двома іншими – контрольною та другою, отже відображала більшу долю втрати прикріплення.

Для наглядного порівняння пропорцій кровоточивих при пробі сайтів між групами було побудовано графік (Рис. 3.51), і таблицю щоб помістити всі дані статистичного аналізу методом χ^2 та ВоР у звичному клінічному вигляді - відсотках (Табл. 3.24).

На основі всіх обчислень і порівнянь, на 3й місяць після лікування, найнижчим індексом кровоточивості при пробі виявився індекс у другій групі, де було призначено курс куркуміну, найвищим – у контрольній групі, де проводили

тільки консервативне періодонтальне лікування, порівняно з обома іншими групами (Табл. 3.24).

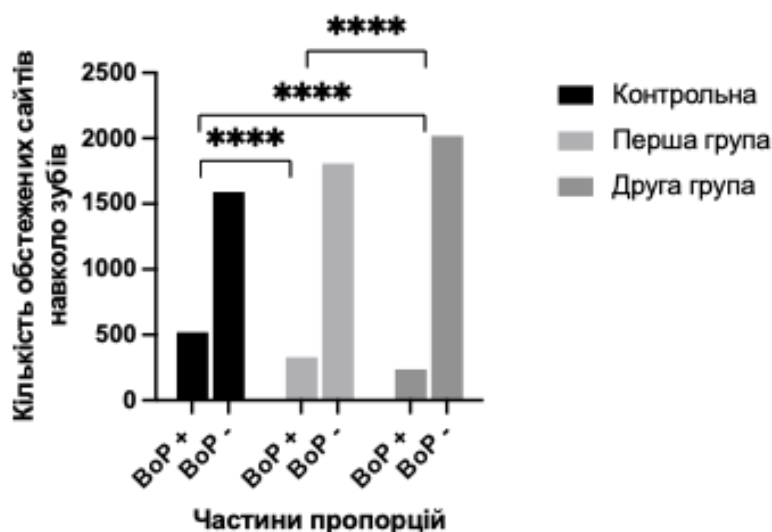


Рис. 3.51 Результати порівняння пропорцій кровоточивих при пробі сайтів між трьома групами під час Т2 точки дослідження, результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p < 0,0001$.

Таблиця 3.24

Результати порівняння пропорцій кровоточивих при пробі сайтів між групами під час Т2 візиту дослідження та клінічні індекси кровоточивості при пробі

	Контрольна	Перша	Друга	p, χ^2
BoP +/-	538/ 1610	346/ 1826	256/ 2036	$p < 0,0001$
-	$p < 0,0001$		-	Атрибутивний ризик 0,14; 95% ДІ 0,10 - 0,18
-	$p < 0,0001$			Атрибутивний ризик 0,24; 95% ДІ 0,20 - 0,27
-	-	$p < 0,0001$		Атрибутивний ризик 0,10; 95% ДІ 0,06 - 0,14

BoP, %	25,1	15,9	11,2	-
--------	------	------	------	---

Для зручної візуалізації і порівняння пропорцій ділянок, вкритих зубною бляшкою, було побудовано графік (Рис. 3.52), і таблицю щоб помістити всі дані статистичного аналізу методом χ^2 та індексу нальоту у звичному клінічному вигляді – відсотках (Табл. 3.25). Після аналізу, на 3й місяць після лікування, найнижчий індекс нальоту встановлено у другій групі, найвищий – у контрольній групі, де проводили тільки періодонтальне лікування, порівняно з обома іншими групами (Табл. 3.25, Рис. 3.52).

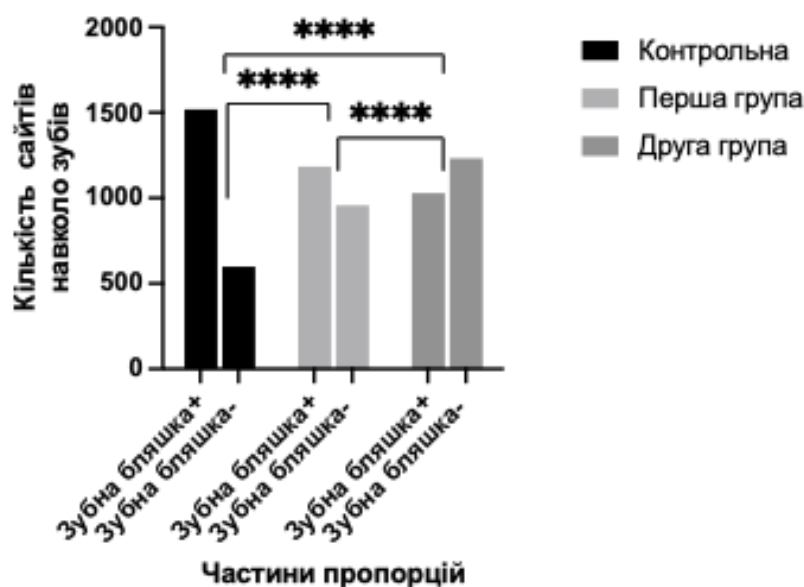


Рис. 3.52 Результати порівняння індексів нальоту між трьома групами під час T2 точки дослідження, результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p < 0,0001$.

Таблиця 3.25

Результати порівняння пропорцій ділянок з зубною бляшкою між групами під час T2 точки дослідження та клінічні індекси нальоту

	Контральна	Перша	Друга	p, χ^2
Зубна бляшка + / –	538/ 1610	346/ 1826	256/ 2036	$p < 0,0001$

-	$p < 0,0001$		-	Атрибутивний ризик 0,17; 95% ДІ 0,14 - 0,20
-	$p < 0,0001$			Атрибутивний ризик 0,27; 95% ДІ 0,24 - 0,29
-	-	$p < 0,0001$		Атрибутивний ризик 0,10; 95% ДІ 0,07 - 0,13
Індекс нальоту, %	71,4	55,2	45,6	-

Результати анкетування через 3 місяці показали менший бал у першій і другій групах, порівняно з контрольною, але відмінність між першою та другою не досягала достовірності (Табл. 3.26, Рис. 3.53).

Таблиця 3.26

Міжгрупові відмінності загальних балів анкетування під час Т2 точки дослідження

	Контрольна	Перша	Друга	p, χ^2
Сума балів, набраних анкетуванням	96	61	71	$p=0,009$
3 784 можливих балів				
-	$p=0,003$		-	Атрибутивний ризик 0,12 95% ДІ 0,04 - 0,20
-	$p=0,04$			Атрибутивний ризик 0,08 95% ДІ 0,0006 - 0,16
-	-	$p=0,36$ НД		-

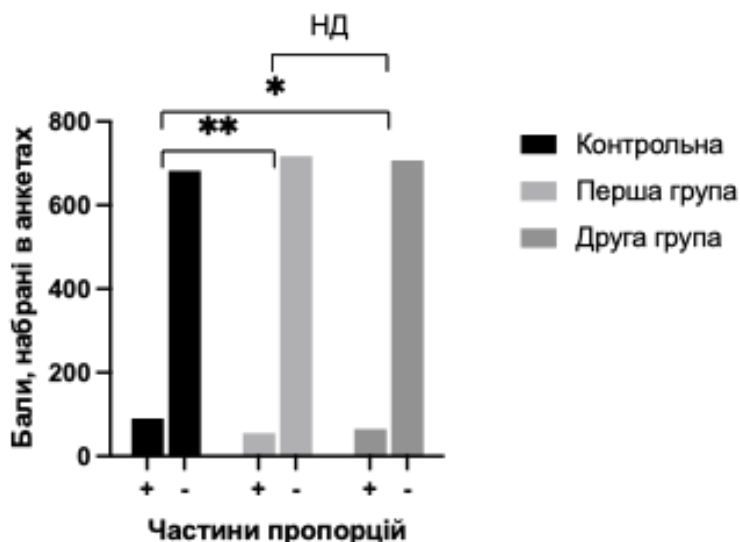


Рис. 3.53 Результати порівняння даних анкетування між групами під час T2 точки дослідження, результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p=0,009$.

Отже, згідно саморепортування, визначався добрий ефект лікування на рівні сприйняття пацієнтом в групах із системним призначенням як EGCg, так і куркуміну.

Під час T3, а саме, на 6й місяць дослідження, проводили порівняння клінічних показників між групами дослідження.

Всім пацієнтам у цей контрольний візит оновлювали дані періодонтограм, які слугували першоджерелом всіх сурогатних клінічних показників стану періодонту, а також проводили повторне анкетування.

Загалом пацієнти у більшості випадків характеризувались клінічним покращенням. Відмінності у двох основних досліджуваних групах першій та другій, могли б відображати клінічну ефективність у перспективі – півроку.

Порівняння кількості сайтів з трьома категоріями глибини показало достовірні відмінності між усіма групами (Рис. 3.54, Табл. 3.27).

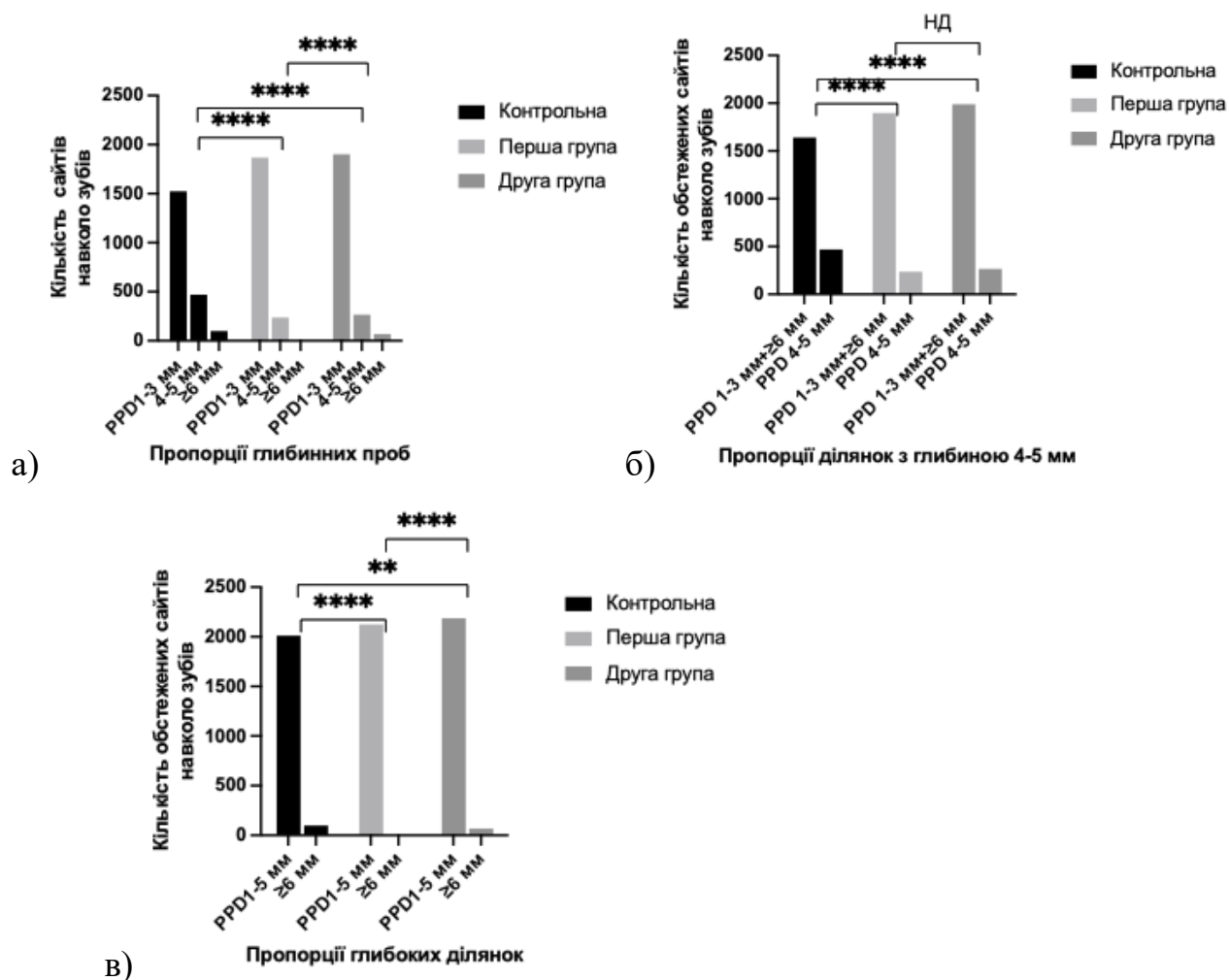


Рис. 3.54 Результати порівняння пропорцій періодонтальних глибин між групами дослідження під час ТЗ, результати всіх тестів χ^2 (R×C таблиця) $p < 0,0001$:

- а) три категорії глибинних проб в пропорціях;
- б) частка сайтів з глибиною 4-5 мм, порівняно з іншими глибинами;
- в) частка глибоких сайтів ≥ 6 мм, порівняно з іншими глибинами.

Таблиця 3.27

Результати порівняння співвідношень періодонтальних глибин між групами під час ТЗ точки дослідження

	Контрольна	Перша	Друга	p, χ^2
--	------------	-------	-------	-------------

PPD1-3 мм / 4-5 мм / ≥6 мм	1543/ 488/ 117	1887/ 256/ 29	1920/ 285/ 87	p<0,0001
	p<0,0001			-
PPD1-3 +≥6 мм / 4-5 мм	1660/ 488	1916/ 256	2007/ 285	p<0,0001
-	p<0,0001		-	Атрибутивний ризик 0,19; 95% ДІ 0,15 - 0,23
-	p<0,0001			Атрибутивний ризик 0,18; 95% ДІ 0,14 - 0,22
-	-	p=0,51 НД		-
PPD ≥6 мм / 1-3мм + 4-5 мм	117 / 2031	29 / 2143	87 / 2205	p<0,0001
-	p<0,0001		-	Атрибутивний ризик 0,31; 95% ДІ 0,25 - 0,39
-	p=0,009			Атрибутивний ризик 0,09; 95% ДІ 0,02 - 0,17
-	-	p<0,0001		Атрибутивний ризик 0,24; 95% ДІ 0,15 - 0,32

Примітка: в таблиці наведені кількості і пропорції обстежених ділянок. Всі р отримано методом χ^2 : R×C та 2×2 таблиці. Клямра відображає між якими стовпцями проведено порівняння. НД – статистично не достовірно.

Встановлено, що достовірно зменшувалась доля сайтів помірної глибини 4-5 мм – у групах з додатковим призначенням EGCg або куркуміну, порівняно з суто періодонтальним лікуванням, а також доля більш глибоких сайтів. Стосовно глибоких ділянок – відносно краще себе проявив EGCg, порівняно з обома іншими групами.

При порівнянні пропорцій CAL у Т3 точці дослідження, статистичний аналіз вловив достовірно нижчу пропорцію втрати прикріплення більше 4 мм у першій та другій групах, порівняно з контрольною, з величиною ефекту 6-7% (Рис. 3.55, Табл. 3.28, атрибутивні ризики 0,06 і 0,07, відповідно).

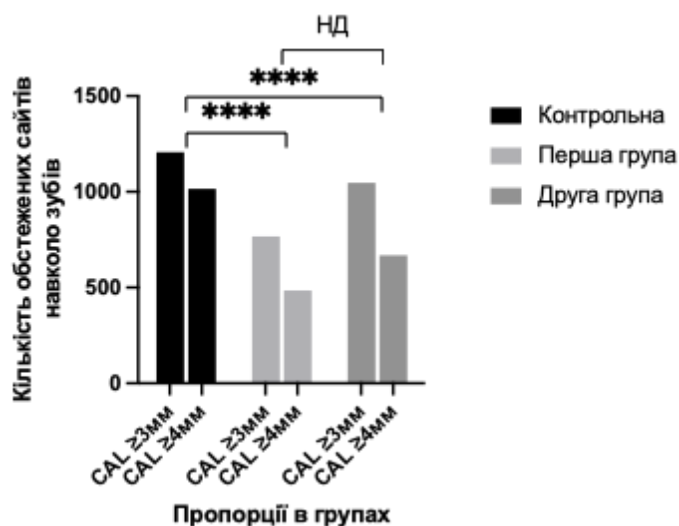


Рис. 3.55 Результати порівняння співвідношень з різним рівнем клінічного прикріплення між групами дослідження під час Т3, результати тесту χ^2 ($R \times C$ таблиця) $p < 0,0001$.

Таблиця 3.28

Результати порівняння співвідношень втрати клінічного прикріплення між групами під час Т3 точки дослідження

	Контрольна група	Перша група	Друга група	p, χ^2
--	------------------	-------------	-------------	-------------

CAL ≥ 3 мм / ≥ 4 мм	1218/ 1027	778/ 496	1058/ 679	p<0,0001
-	p<0,0001		-	Атрибутивний ризик 0,06; 95% ДІ 0,03 - 0,10
-	p<0,0001			Атрибутивний ризик 0,07; 95% ДІ 0,04 - 0,10
-	-	p=0,93 НД	-	-

Для наглядного порівняння пропорцій кровоточивих при пробі між групами було побудовано графік (Рис. 3.57), і таблицю щоб помістити всі дані статистичного аналізу методом χ^2 та ВоР у звичному клінічному вигляді - відсотках (Табл. 3.29).

На основі всіх обчислень і порівнянь, на 6й місяць після лікування, найнижчим індексом кровоточивості при пробі виявився індекс у другій групі де було призначено курс куркуміну, найвищим – у контрольній групі, де проводили тільки періодонтальне лікування, порівняно з обома іншими групами (Рис. 3.56, Табл. 3.29).

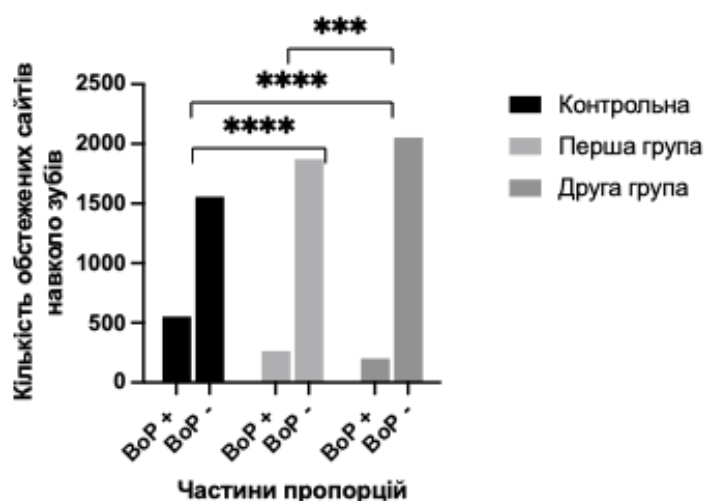


Рис. 3.56 Результати порівняння пропорцій кровоточивих при пробі сайтів між групами дослідження під час ТЗ, результати тесту χ^2 (R×C таблиця) $p < 0,0001$.

Таблиця 3.29

Результати порівняння пропорцій кровоточивих при пробі сайтів між групами під час ТЗ точки дослідження та клінічні індекси кровоточивості при пробі

	Контрольна	Перша	Друга	p, χ^2
BoP + / –	572/ 1576	282/ 1890	220/ 2072	$p < 0,0001$
-	$p < 0,0001$		-	Атрибутивний ризик 0,22; 95% ДІ 0,18 - 0,25
-	<u>$p < 0,0001$</u>			Атрибутивний ризик 0,29; 95% ДІ 0,25 - 0,32
-	-	$p = 0,0003$		Атрибутивний ризик 0,08; 95% ДІ 0,04 - 0,13
BoP, %	26,6	12,9	9,6	-

На бй місяць після лікування, найнижчий індекс нальоту, 36,1%, встановлено у контрольній групі, найвищий, 47,7% – у другій групі, порівняно з обома іншими групами (Рис. 3.57, Табл. 3.30).

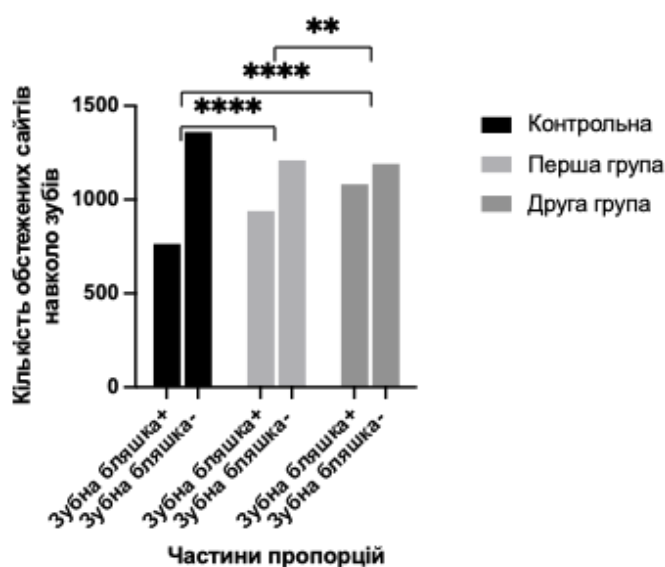


Рис. 3.57 Результати порівняння індексів нальоту у пропорціях між групами дослідження під час ТЗ, результати тесту χ^2 (RxC таблиця) $p < 0,0001$.

Таблиця 3.30

Результати порівняння пропорцій ділянок з зубною бляшкою між групами під час ТЗ точки дослідження та клінічні індекси нальоту

	Контрольна	Перша	Друга	p, χ^2
Зубна бляшка + / -	776/ 1372	951/ 1221	1092/ 1200	$p < 0,0001$
-	$p < 0,0001$		-	Атрибутивний ризик 0,08; 95% ДІ 0,05 - 0,11
-	$p < 0,0001$			Атрибутивний ризик 0,12; 95% ДІ 0,09 - 0,15
-	-	$p = 0,0097$		Атрибутивний ризик 0,04; 95% ДІ 0,009 - 0,069
Індекс нальоту, %	36,1	43,8	47,7	-

Через 6 місяців, дані анкетування показали менший бал скарг у першій та другій групах, порівняно з контрольною, але відмінність між першою і другою не

досягала достовірності ($p=0,19$, χ^2 тест, RxC табл.) (Рис. 3.58, Табл. 3.31). (Таблиця подана, головним чином, для презентації первинних даних анкетування.)

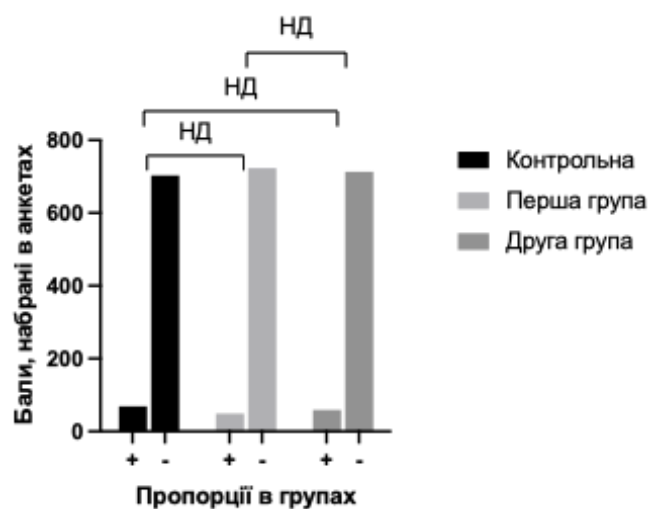


Рис. 3.58 Результати порівняння балів анкетування між групами дослідження під час ТЗ, результати тесту χ^2 (RxC таблиця) $p=0,19$, не достовірно.

Таблиця 3.31

Міжгрупові відмінності загальних балів анкетування під час ТЗ точки дослідження

	Контрольна	Перша	Друга	p, χ^2
Сума балів, набраних анкетуванням	75	55	65	$p=0,19$ НД
3 784 можливих балів				

Примітка. НД – не достовірно статистично.

Таким чином, на 6 місяць, згідно саморепортування, не вловлено достовірності у відмінностях набраних балів анкетування між групами.

Для узагальнення отриманих статистичних даних по клінічним даним, і щоб врахувати відмінності після рандомізації, було співставлено траєкторії змін клінічних пропорцій за період дослідження. Їх наведено на рис. 3.59, 3.60.

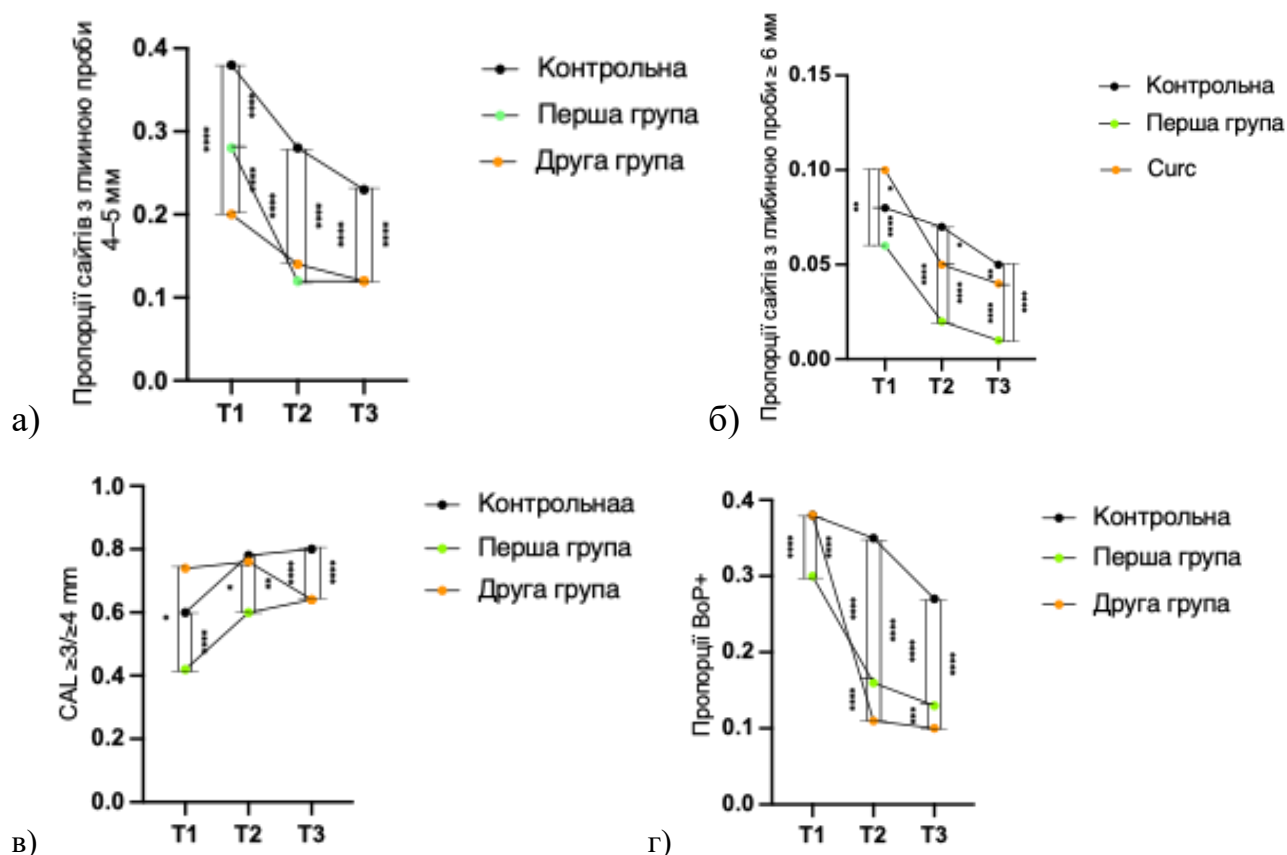


Рис. 3.59 Траєкторія змін клінічних індексів у точках дослідження і результати порівняння між групами (статистично порівняно вище, *статистична достовірність позначена наступним чином: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$):

- а) змін частки мілких сайтів;
- б) змін частки глибоких сайтів;
- в) зміни пропорцій клінічного прикріплення ≥ 3 мм / ≥ 4 мм;
- г) динаміка змін BoP.

EGCg був достовірно кращим по зменшенню кількості сайтів 4-5 мм через 3 місяці після курсу. Куркумін, згідно його майже паралельної динаміки з контрольною групою (Рис. 3.59 а), майже не впливав на відсоток зменшення кількості сайтів 4-5 мм, (тобто статистичний аналіз не вловив достовірності).

Стосовно зменшення кількості глибоких сайтів то у першій і другій групах це відбувалось відносно ефективніше, порівняно контрольною на 3й і 6й місяці, що може свідчити про клінічну ефективність обох препаратів. Але при ретельному

порівнянні на 3й місяць, позитивно себе зарекомендував лише Куркумін з відмінами на 28% від контрольної групи (Рис. 3.6, Табл. 3.22: AP 0,28; 95% ДІ 0,22 - 0,35), за рахунок різкого зменшення долі глибоких сайтів з початку лікування і до кінця спостереження (відміни від контрольної групи на 9% (AP 0,09; 95% ДІ 0,02 - 0,17) (Табл. 3.27, Рис. 3.59 б). Траєкторія змін цих пропорцій глибоких ділянок для першої і другої груп мали вигляд паралельних ліній (Рис. 3.59 б), тому клінічне значення на 3й і 6й місяці нівелювалось невірноваженими вихідними даними (Рис. 3.6, Табл. 3.22), незважаючи на статистично достовірну різницю між першою і другою групами (Рис. 3.59 б, Табл. 3.27).

Згідно динаміки змін $CAL \geq 3/\geq 4$ мм, дані для другої групи були достовірно краще на 6й місяць на відміну від контрольної групи, і були нижчі на 7% (AP 0,07; 95% ДІ 0,04 - 0,10, Табл. 3.28). Динаміка змін цих пропорцій для контрольної та першої груп мали вигляд паралельних ліній (Рис. 3.59 в), тому клінічне значення на 3й і 6й місяці нівелювалось вихідними даними, незважаючи на статистично достовірну різницю між цими групами (Табл. 3.28). Отже, курс куркуміну разом з періодонтальним лікуванням був пов'язаний з відносним зменшенням CAL.

За показником запалення, BoP, перша і друга групи показали достовірно нижчі показники порівняно з контрольною на 14% та 24% - під час 3го міс. (атрибутивний ризик 0,14; 95% ДІ 0,10 - 0,18; атрибутивний ризик 0,24; 95% ДІ 0,20 - 0,27, відповідно, Табл. 3.24); і на 22% та 29% - під час 6го місяця (AP 0,22; 95% ДІ 0,18 - 0,25; AP 0,29; 95% ДІ 0,25 - 0,32, відповідно, Табл. 3.29), а в другій групі ще нижчі, порівняно з першою, на 10% - на 3й місяць (AP 0,10; 95% ДІ 0,06 - 0,14, Табл. 3.24), і на 8% - на 6й (AP 0,08; 95% ДІ 0,04 - 0,13, Табл. 3.29).

Індекси зубного нальоту на 3й місяць чітко залежали від вихідних даних з дуже подібною траєкторією змін (Рис. 3.60 а), тому, не зважаючи на достовірність міжгрупових відмін, для визнання клінічних переваг в основних групах було недостатньо обґрунтувань. Але на 6й місяць в першій чи другій групах наліт вкривав достовірно більше сайтів, порівняно з контрольною, а найбільше – в другій групі. На 6й місяць індекси нальоту були достовірно гірші в основних групах порівняно з контрольною: у першій групі – на 8% (атрибутивний ризик 0,08; 95%

ДІ 0,05 - 0,11), та у другій групі – на 12% (атрибутивний ризик 0,12; 95% ДІ 0,09 - 0,15). А у другій групі – ще на 4% вище ніж у першій (атрибутивний ризик 0,04; 95% ДІ 0,009 - 0,069) (Табл. 3.30).

За набраними анкетуванням балами, достовірні відміни були вловлені лише на 3й місяць, коли достовірно менше балів було відзначено в першій та другій групах, на 12% і 8% менше, порівняно з контрольною (95% ДІ 0,04-0,2 і 0,0006-0,16, відповідно, Рис.3.60 б)

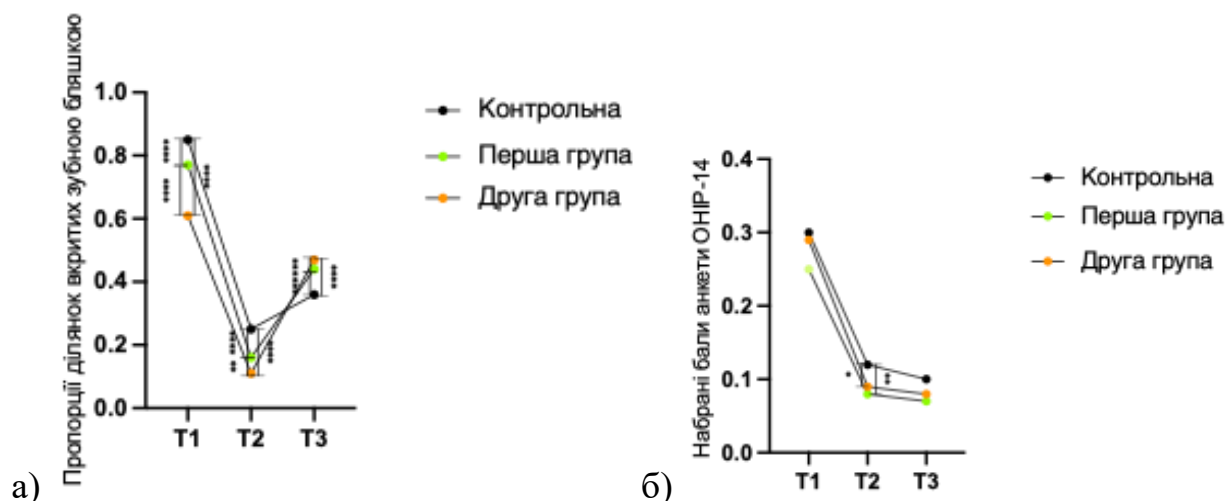


Рис. 3.60 Траєкторія змін клінічних індексів у точках дослідження і результати порівняння між групами (статистично порівняно вище, *статистична достовірність позначена наступним чином: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$):

а) траєкторія змін індексу нальоту;

б) траєкторія змін даних анкетування.

Додатково між групами порівнювався відсоток закритих кишень, розрахований за формулою:

$$\frac{\text{Приріст кількості сайтів з PPD} \leq 3 \text{ мм у T2 або T3}}{\text{загальна кількість початкових PPD 4 і} > \text{мм}} \times 100\% \quad (3.1)$$

(Приріст кількості сайтів, що відповідають критерію $\text{PPD} \leq 3$ мм розраховували як різницю між $\text{PPD} \leq 3$ мм у T2 або T3 - $\text{PPD} \leq 3$ мм у T1.)

Порівняння між групами проведені також за допомогою тестів χ^2 . Первинні пропорції подано у табл. 3.22

Таблиця 3.32

Результати порівняння пропорцій «закритих кишень» між точками дослідження

	Контрольна	Перша група	Друга група	p, χ^2
Вихідні дані: PPD 4-5 мм + PPD $\geq$ 6 мм	933	753	708	-
T2: приріст числа PPD $\leq$ 3 мм, %	1409- 1155=254 27%	1864- 1419=445 59%	1856- 1584=272 38%	p<0,0001
-	p<0,0001		-	Атрибутивний ризик 0,19; 95% ДІ 0,15 - 0,23
--	p=0,0006			Атрибутивний ризик 0,09; 95% ДІ 0,04 - 0,14
	-	p<0,0001		Атрибутивний ризик 0,11; 95% ДІ 0,06 - 0,15
T3: Приріст числа PPD $\leq$ 3 мм, %	1543- 1155= 338 36%	1887- 1419= 468 62%	1920- 1584= 336 47%	p<0,0001
-	p<0,0001			Атрибутивний ризик 0,13; 95% ДІ 0,09 - 0,18
-	p=0,0032			Атрибутивний ризик 0,07; 95% ДІ 0,02 - 0,11

-		p=0,0023	Атрибутивний ризик 0,07; 95% ДІ 0,02 - 0,11
---	--	----------	--

Під час Т2 точки дослідження найбільший відсоток «закриття кишень» визначено у першій групі – 59%, що становило в середньому на 19% більше, порівняно з контрольною групою і на 11% - порівняно з другою групою. Відповідно, у другій групі – на 9% вище ніж у контрольній. Отже, обидві основні групи показали більший рівень «закриття кишень» (Табл. 3.32 та Рис. 3.61).

Під час Т3 точки дослідження найбільший відсоток закриття кишень визначено у першій групі – 62%, що становило в середньому 13% різниці порівняно з контрольною групою і на 7% - з другою групою. І у другій групі – також на 7% вище ніж у контрольній групі (Табл. 3.32 та Рис. 3.61).

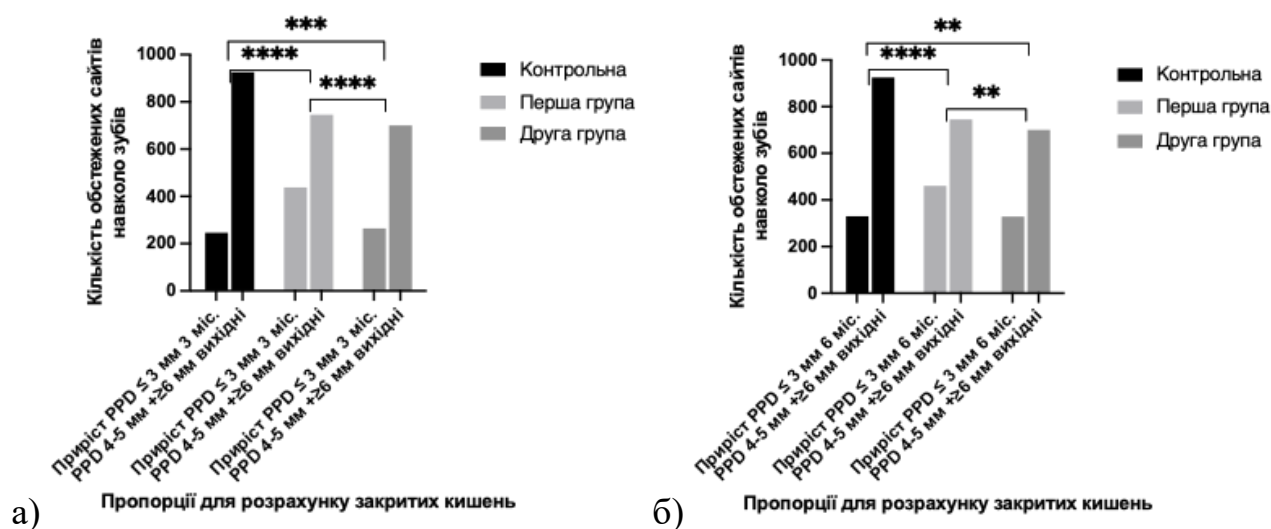


Рис. 3.61 Результати порівняння «закриття кишень» між групами методом χ^2 ($R \times C$ таблиця), але на графіках нанесені $p \chi^2$ (2×2 таблиця):

а) під час Т2 точки дослідження, $p < 0,0001$

б) під час Т3 точки дослідження, $p < 0,0001$.

Хоча обидві основні групи – перша і друга, показали більший рівень «закриття кишень», найбільший відсоток «закриття кишень» визначено у першій групі.

3.6.2. Порівняння між групами дослідження експресії міРНК. Після розподілу пацієнтів з ПД на групи дослідження, порівняння між групами вихідних даних експресії п'яти досліджуваних міРНК не досягали достовірних значень (Рис. 3.62 а-д). Точка дослідження Т1 відповідала вихідним значенням до лікування пацієнтів.

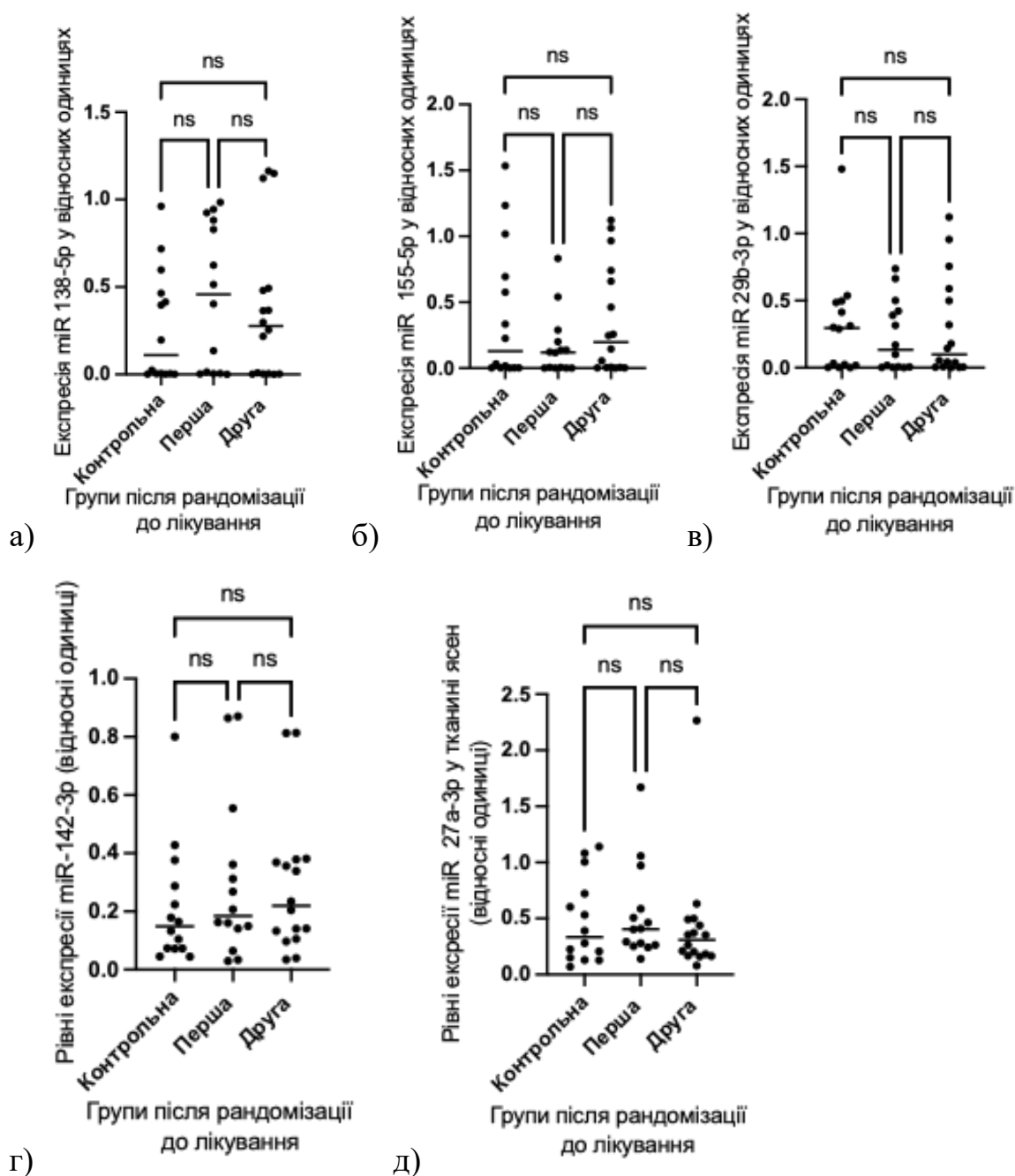


Рис. 3.62 Результати порівняння рівнів експресії міРНК між рандомізованими групами дослідження під час Т1 (до лікування) непараметричним тестом Краскела-Уолліса з подальшим пост-хок аналізом Данна для корекції множинних порівнянь:

(а) міРНК 138-5р,

(б) міРНК 155-5р,

(в) міРНК 29b-3р,

(г) міРНК 142-3р,

(д) міРНК 27a-3р.

Примітка: ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Під час Т2 точки дослідження, тобто через 3 місяці від початку лікування, рівні міРНК 138-5р у першій групі достовірно перевищували другу групу (Рис. 3.63 а); міРНК 155-5р у першій групі достовірно перевищувала відносні показники кількості другої групи, в якій вони були найнижчі порівняно з обома іншими (Рис. 3.63 б).

Між рівнями експресії міРНК 29b-3р різних груп не вловлено статистично достовірної різниці (Рис. 3.63 в); а рівень міРНК 142-3р у першій групі був достовірно вище, порівняно з двома іншими, відповідно у другій групі експресія була нижче, порівняно з першою (Рис. 3.63 г).

Рівні експресії міРНК 27a-3р в першій групі під час Т2 були вищі порівняно з другою; у другій групі відмічені найнижчі рівні, порівняно з обома іншими групами (Рис. 3.63 д).

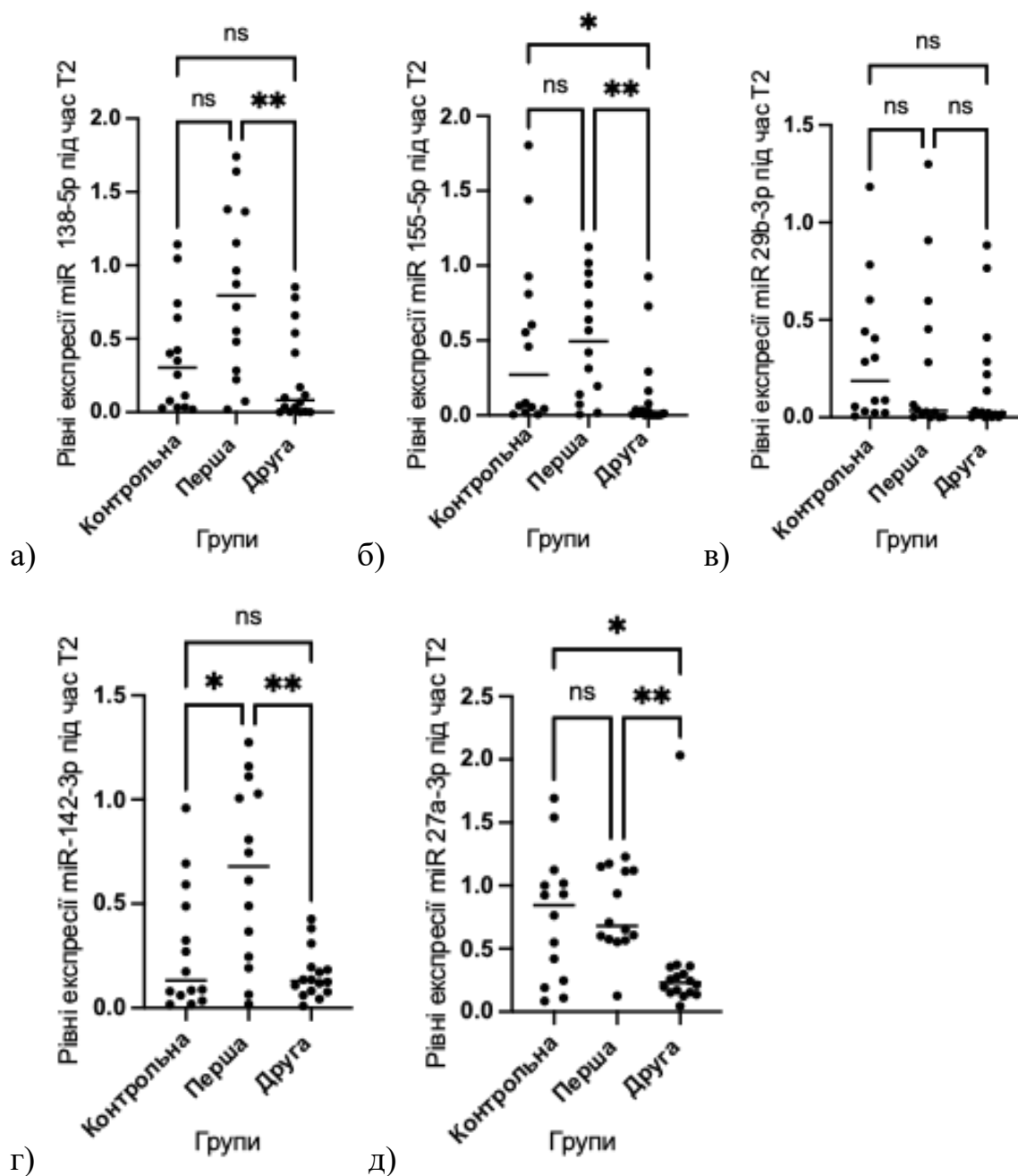


Рис. 3.63 Результати порівняння рівнів експресії міРНК між групами під час T2 тестом Крассела-Уолліса з подальшим пост-хок аналізом Данна для корекції множинних порівнянь:

- (а) міРНК 138-5р,
- (б) міРНК 155-5р,
- (в) міРНК 29b-3р,
- (г) міРНК 142-3р,
- (д) міРНК 27a-3р.

Примітка: ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Під час Т3 точки дослідження, або через 6 місяців від початку лікування, рівні більшості міРНК не досягали достовірних відмін між групами, окрім для міРНК 27a-3p, який було нижче у другій групі, порівняно з контрольною (Рис. 3.64).

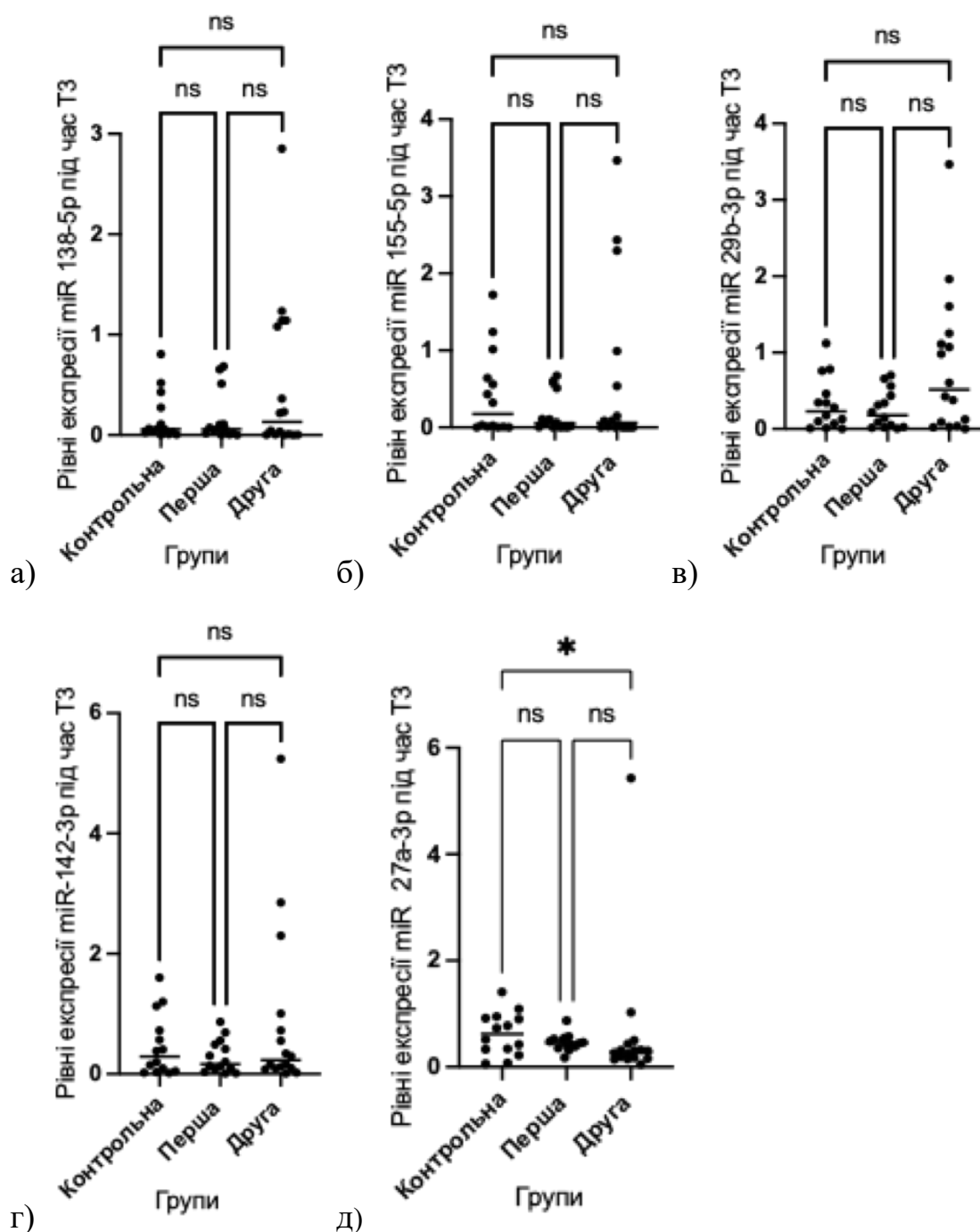


Рис. 3.64 Результати порівняння рівнів експресії міРНК між групами під час Т3 тестом Краскела-Уолліса з подальшим пост-хок аналізом Данна для корекції множинних порівнянь:

- (а) міРНК 138-5р,
- (б) міРНК 155-5р,
- (в) міРНК 29b-3р,
- (г) міРНК 142-3р,
- (д) міРНК 27a-3р.

Примітка: ns (англ. nonsignificant) – не достовірно.

Таким чином, на рівні між групами достовірних відмінностей досягали під час Т2: miR138-5, 155-5р, 142-3р та miR 27a-3р, а під час Т3 – лише miR 27a-3р у другій групі, отже коливання рівнів цих міРНК могли бути пов'язані з періодонтальним лікуванням та додатковим прийомом EGCg чи куркуміну.

3.6.3. Порівняння між групами дослідження експресії цитокінів у тканині ясен. Рівні цитокінів характеризували як вихідні дані та вивчали у контексті експресії п'яти міРНК і клінічних показників при пародонтиті (підрозділ 3.2, Рис. 3.12); вивчали їх зміни у відповідь на стандартну періодонтальну терапію (підрозділ 3.3.3., Рис. 3.25 а), у відповідь на додатковий прийом епігалокатехін галату (підрозділ 3.4.3, Рис. 3.36), та на додатковий прийом куркуміну (підрозділ 3.5.3, Рис. 3.48) (тобто порівнювали між контрольними часовими проміжками дослідження Т1 і Т3).

У цьому підрозділі на графіках подано підсумовані зміни під час Т1 та Т3 в залежності від групи (Рис. 3.65). Загалом, всі досліджені цитокіни достовірно змінювали свій рівень після додаткових курсів EGCg або куркуміну, але не в контрольній групі, де статистика не вловила достовірності.

Далі подано порівняння між групами під час Т3, на кінець дослідження (Рис. 3.66 а-г).

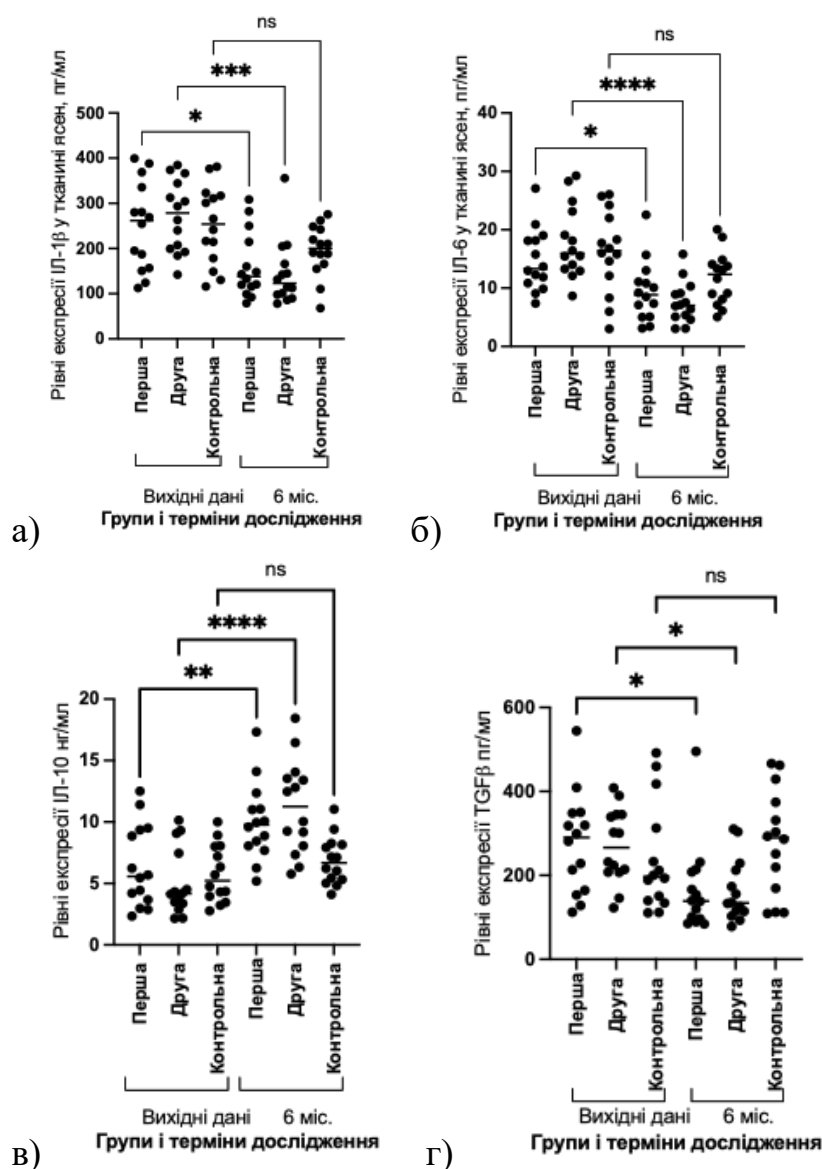


Рис. 3.65 Порівняння ясенних рівнів цитокінів між часовими точками T1 і T3 за результатами ANOVA Брауна-Форсайта та Велча з подальшою корекцією множинних порівнянь методом Šídaka.

(а) IL-1β;

(б) IL-6;

(в) IL-10;

(г) TGF-β.

На кінець спостереження, рівні IL-6, IL-10 і TGF-β мали достовірні різниці при порівнянні між групами (Рис. 3.66):

У другій групі ІЛ-6 був на достовірно нижчому рівні порівняно з контрольною (Рис. 3.66 б).

У першій і другій групах ІЛ-10 був достовірно вище, порівняно з контрольною (Рис. 3.66 в).

У першій групі TGF- β був на достовірно нижчому рівні порівняно з контрольною групою (Рис. 3.66 г).

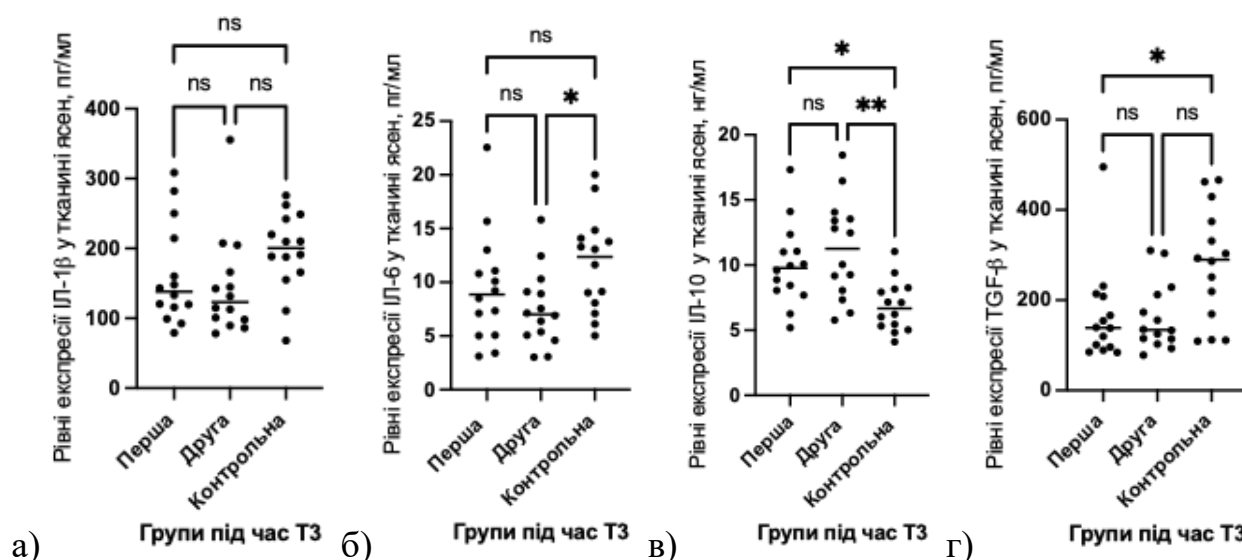


Рис. 3.66 Результати порівняння ясенних рівнів цитокінів між групами під час Т3 методом Крассела-Уолліса з подальшим застосуванням пост-хок тесту Данна для множинних порівнянь:

- (а) ІЛ-1 β ;
- (б) ІЛ-6;
- (в) ІЛ-10;
- (г) TGF- β .

3.6.4. Клініко-молекулярні кореляційні взаємозв'язки при розробленому таргетному лікуванні пародонтиту. Підрозділ узагальнює отримані поздовжні і поперечні результати порівнянь, будуючи паралелі та перевіряючи кореляційні чи асоціативні зв'язки; важливі статистичні результати повторюються у цьому підрозділі для нових співставлень.

Після додаткових курсів лікування, перша та друга групи показали достовірне поліпшення клінічних параметрів, порівняно з контрольною, де проводили лише стандартне обов'язкове періодонтальне лікування (Підрозділ 3.6.1). У першій групі пропорція помірних глибин 4-5 мм достовірно зменшилась під час T2, порівняно з контрольною (Табл. 3.22). Після коригування щодо вихідних розбіжностей, це зменшення не перевищувало 13% ($p < 0,0001$; AP = 0,11; 95% ДІ 0,08–0,14; Рис. 3.59 а).

Перша та друга групи показали краще зниження глибоких ділянок під час T2 і T3, порівняно з контрольною групою (Рис. 3.59 б). У другій групі під час T2, задокументовано найбільший ефект, з 28% покращення порівняно з контрольною ($p < 0,0001$; AP = 0,28; 95% ДІ 0,22–0,35, Табл. 3.22). З T1 до T3, у другій групі тримався ефект 9%, який переважав значення у контрольній ($p < 0,01$; AP = 0,09; 95% ДІ 0,02–0,17, Табл. 3.27). Перша група мала подібну траєкторію змін, демонструючи паралельний тренд радше ніж різницю ефекту (Рис. 3.59 б). Отже, розміри ефекту по зменшенню глибоких ділянок в першій та другій групах приблизно однакові: 27% (Табл.3.13) і 25% (Табл. 3.17), відповідно, як і на момент T3дослідження: 34% та 26% (ті самі таблиці).

У другій групі під час T3, відзначено покращення співвідношення порогових значень CAL $\geq 3/\geq 4$ мм, з 7% переваг над контрольною групою ($p < 0,0001$; AP = 0,07; Табл.3.28, Рис. 3.59 в). Хоча розмір ефекту при порівнянні між T1-T3 склав скромні 4% (Табл. 3.18). В інших двох групах ці пропорції зменшувалась (Рис. 3.59 в).

У другій групі під час T2 індекс BoP знижувався найсильніше, хоча і перша також показала достовірні знижені значення порівняно з контрольною (Перша: AP = 0,14, 95% ДІ 0,10–0,18; Друга: AP = 0,24, 95% ДІ 0,20–0,27; Табл. 3.24; Рис. 3.59 г). У другій групі BoP був на 10% нижче, ніж у першій (AP = 0,10; 95% ДІ 0,06–0,14, Табл.3.24). Друга група була найкраща, а перша – краща поряд з контрольною, під час T3, з перевагами 22% і 29%, відповідно, плюс 8% переваги другої над першою (AP = 0,08; 95% ДІ 0,04–0,13; Табл. 3.29). Розміри ефектів при порівнянні T1-T3 складали 25% (Табл. 3.14) та 40% (Табл. 3.19).

Перша та друга групи показали достовірне збільшення індексу нальоту під час Т3, порівняно з контрольною, з перевагою цього індексу у другій (Рис. 3.60 а). Хоча розміри ефектів при порівнянні між Т1 і Т3 точками становили 34% (Табл. 3.15) та 14% (Табл. 3.20), відповідно (бо під час Т1 у другій групі цей індекс був нижче ніж у другій).

Перша та друга групи згідно ОНІР-14-анкетування показали достовірне покращення стосовно скарг під час Т2, Рис. 3.60 б). Розміри ефектів між Т1 і Т2 були майже однакові 36% (Табл. 3.16) та 32% (Табл. 3.21).

У першій групі закриття кишень (розраховане по формулі 3.1) показало кращий відсоток під час Т2 (59%), перевищуючі другу, в якій було 38%, і контрольну, в якій було 27%. А також під час Т3. Всі відміни були статистично достовірні (Табл. 3.32 і 3.33).

Таблиця 3.33

Порівняння закриття кишень під час Т1-Т3

Параметр	Перша	Друга	Контрольна група	$p \chi^2$ (порівняння між групами)
Т1: Сума: PPD 4–5 мм + ≥ 6 мм	753	708	933	–
Т2: Приріст PPD ≤ 3 мм (%)	1864 – 1419 = 445 (59%)	1856 – 1584 = 272 (38%)	1409 – 1155 = 254 (27%)	Перша vs Друга: $p < 0,0001$, AP = 0,11, 95% ДІ 0,06–0,15 Перша vs Контрольна: $p < 0,0001$, AP = 0,19, 95% ДІ 0,15–0,23 Друга vs Контрольна: $p = 0,0006$, AP = 0,09, 95% ДІ 0,04–0,14

T3: Приріст PPD ≤ 3 мм (%)	1887 – 1419 = 468 (62%)	1920 – 1584 = 336 (47%)	1543 – 1155 = 338 (36%)	Перша vs Друга: $p = 0,0023$, AP = 0,07, 95% ДІ 0,02–0,11 Перша vs Контрольна: $p < 0,0001$, AP = 0,13, 95% ДІ 0.09–0.18 Друга vs Контрольна: $p =$ 0,0032, AP = 0,07, 95% ДІ 0,02–0,11
---	--	--	-----------------------------------	--

Примітки. AP – атрибутивний ризик; ДІ – довірчий інтервал.

Формула розрахунку % «закриття кишень»

Перша група показала додаткові клінічні переваги: по зменшенню пропорції помірних глибин 4-5 мм під час T2; та по збільшенню % закритих кишень (але і друга також мала аналогічний менш виразний ефект).

Друга група показала додаткові клінічні переваги: по зниженню BoP (але і перша також мала менш виразну ефективність), та покращення співвідношення порогових значень CAL $\geq 3/\geq 4$ мм (під час T3).

В обох групах проявився ефект по зменшенню глибоких ділянок та зменшення балів ОНП-14-анкетування з приблизно однаковим розміром і тривалістю згідно періодів дослідження.

При цих ефектах у першій та другій групах підвищувався індекс зубного нальоту.

Після лікування, під час T2, у першій групі достовірно підвищились рівні miR-138-5p, miR-155-5p, miR-142-3p, які перебільшували другу і контрольну групу.

У другій групі, навпаки, рівні miR-138-5p, miR-155-5p, miR-142-3p, та miR-27a-3p знизились.

На кінець дослідження рід час Т3, достовірних відмін досягали рівні miR-27a-3p, які були нижчі у другій групі, порівняно з контрольною.

Якщо до початку лікування ПД, міРНК 27a-3p корелювала з трьома міРНК: 155-5p ($r = -0,451$, $p = 0,001$), 29b-3p ($r = -0,330$, $p = 0,023$), та 142-3p ($r = 0,331$, $p = 0,023$), коім того, три мікроРНК мали високу силу позитивних зв'язків: 138-5p 155-5p і 29b-3p ($p < 0,0001$) (Рис. 3.12). То після лікування у першій групі встановлювалось спочатку дві, а потім сім кореляційних взаємозв'язків, серед яких miR-29b-3p позитивно корелювала з усіма іншими (Розділ 3.4.2), і в другій групі – три під час Т2 і п'ять – під час Т3 (Розділ 3.5.2).

Слід відмітити, що під час Т2, у першій та другій групах тенденції змін рівнів міРНК мали протилежні напрямки: у першій – переважно достовірно підвищувались, (що відповідало таким клінічними перевагам, описаним вище, як краще усунення відносно неглибоких кишень) у другій - переважно знижувались (що відповідало зниженню ВоР).

Кореляції цитокінів з клінікою оцінювали, хоча їх інтерпретація, також мала серйозні обмеження (клініка стосувалась усіх зубів, «full mouth», а біопсія проводилась побіля окремих зубів, охоплюючи кілька міліметрів вздовж ясенного краю).

Якщо до початку лікування, клінічні параметри такі як пропорція глибоких ділянок і індекс ВоР корелювали з рівнями ІЛ-10 і TGF- β у тканині ясен (Табл. 3.34), а ІЛ-1 β та ІЛ-10 і TGF- β корелювали між собою, то після лікування у першій групі під час Т3, кореляції досягали достовірності між CAL $\geq 3/\geq 4$ мм і TGF- β , та між ВоР і ІЛ-6 (Табл. 3.35). У другій групі кореляції досягали достовірності між TGF- β та ІЛ-10. (У контрольній – кореляції досягали достовірності між CAL $\geq 3/\geq 4$ мм і TGF- β (як і в першій), а також з PPD ≥ 6 мм з ІЛ-6).

Таблиця 3.34

р-значення і коефіцієнти Спірмена r для достовірних кореляцій між клінічними параметрами і експресією цитокінів у тканинах ясен при пародонтиті

Клінічні параметри	CAL ≥3/≥4 мм	Пропорції ділянок ≥6 мм	Пропорції BoP+	ІЛ-10	TGF-β
Рівні цитокінів					
ІЛ-1	0,522	0,144	0,067	0,045* (r = - 0,29)	0,002* (r= - 0,43)
ІЛ-6	0,933	0,778	1	0,10	0,29
ІЛ-10	1	0,033* (r=0,88)	0,267	1	
TGF-β	0,1	0,556	0,022* (r=0,96)	0,06	1

Таблиця 3.35

р-значення і коефіцієнти Спірмена r для достовірних кореляцій між клінічними параметрами і експресією цитокінів у тканинах ясен під час ТЗ

Перша група			
Клінічні параметри	CAL ≥3/≥4 мм	Пропорції ділянок ≥6 мм	Пропорції BoP+
Рівні цитокінів			
ІЛ-1β	0,197	0,619	0,619
ІЛ-6	0,197	0,488	0,015*(r=0,83)
ІЛ-10	0,360	0,976	1
TGF-β	0,028*(r=0,79)	0,077	0,216

Друга група				
Клінічні параметри	CAL $\geq 3/\geq 4$ мм	Пропорції ділянок ≥ 6 мм	Пропорції BoP+	ІЛ-10
Рівні цитокінів				
ІЛ-1 β	0,892	0,951	1	0,733
ІЛ-6	0,707	0,799	0,492	0,973
ІЛ-10	0,892	0,965	0,537	-
TGF- β	0,387	0,341	0,733	0,035*(r=-0,69)
Контрольна група				
Клінічні параметри	CAL $\geq 3/\geq 4$ мм	Пропорції ділянок ≥ 6 мм	Пропорції BoP+	
Рівні цитокінів				
ІЛ-1 β	0,197	0,228	0,671	
ІЛ-6	0,639	0,02* (r=-0,64)	0,511	
ІЛ-10	0,078	0,072	0,25	
TGF- β	0,03* (r=0,61)	0,195	0,859	

Співставлення основних змін клініки і цитокінів під час Т3: в першій групі співпадало виявлене збільшення відсотку закриття кишень і зниження TGF- β , збільшення ІЛ-10 (порівняно з контрольною, Рис. 3.66 в,г).

У другій – паралельно відбувались зниження BoP, покращення CAL $\geq 3/\geq 4$ мм та: підвищення ІЛ-10, зниження ІЛ-6 (порівняно з контрольною (Рис. 3.66 б,в).

Кореляції рівнів експресії міРНК та цитокінів під час Т3 (6ти місячний термін і кінець дослідження) проводили, що виглядало найбільш обґрунтованою

кореляцією біологічно, оскільки досліджували один і той самий біоптат ясен, хоча різні його частини. Не залежно, що це був один і той самий біоптат – кореляційні зв'язки досягали достовірності лише у першій групі і лише з рівнями TGF- β та:

- miRNA 155-5p ($r=-0,58$, $p=0,03$);
- miRNA 29b-3p ($r=-0,80$, $p=0,001$);
- miRNA 142-3p ($r=-0,65$, $p=0,01$).

Результати досліджень, наведені у даному розділі, опубліковано у нижче зазначених статтях:

Lazarieva K, Skrypnykov P, Shynkevych V & Kaidashev I. Evaluation of a microRNA expression panel and clinical outcomes in periodontitis following adjunctive curcumin or epigallocatechin-3-gallate therapy. *Ukrainian Dental Almanac* 2025; (4):5-17. DOI 10.31718/2409-0255.4.2025.01.

Lazarieva K., Skrypnykov P., Shynkevych V., Kolomiets S., Kaidashev I. Cytokine changes following adjunctive administration of epigallocatechin-3-gallate or curcumin in periodontitis. *World of Medicine and Biology* 2026; 22(95): 98-102. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2026-1-95-98-102>

РОЗДІЛ 4. ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

ПД – поширене запальне захворювання, яке вражає опорні тканини зубів, що призводить до втрати зубів та значно впливає на якість життя пацієнтів [1, 2]. Всі традиційні технологічні методи лікування ПД, включаючи RMPR, фармакологічний системний і місцевий супровід RMPR та інші місцеві заходи активної періодонтальної терапії, а також хірургічні процедури мають певні обмеження як то труднощі з менеджментом глибоких кишень, реколонізація біоплівки, розвиток стійкості до антимікробних препаратів в контексті довготривалого чи навіть позитивного перебігу, а також поступова втрата прикріплення. Отже, розробки і вдосконалення терапії при ПД мають важливе значення.

В цьому клінічному рандомізованому парному 6-місячному проспективному, відкритому, рандомізованому контрольованому дослідженні показані клінічні переваги додаткових курсів EGCg та куркуміну у терапії ПД 2-3/4 ступеня із помірною швидкістю прогресування на широкому контингенті пацієнтів (з невеликим переважанням жіночої статі, 66/34% відповідно) віком від 21 до 74 (середній вік 48 років). Також показано, що додаткові курси EGCg або куркуміну впливають на локальні, у тканинах ясен, рівні експресії міРНК, та рівні про- і антизапальних цитокінів, що може бути механізмом додаткового клінічного покращення.

Порушення експресії мікроРНК пов'язане з різними патологіями, що робить їх корисними молекулами для вивчення як потенційних біомаркерів ХП [10, 34, 37, 38]. Декілька клінічних досліджень вивчали рівні експресії багатьох міРНК при ПД у клінічних дослідженнях з метою визначення діагностичного потенціалу [45, 223]. Найновіший мета-аналіз (2026) проаналізував кілька miRNA і підтвердив потенційно високу діагностичну точність miR-146 та miR-155 як біомаркерів пародонтиту [223]. Інша робота показала, що miR-142-3p та miR-146a демонструють найпослідовніші зміни експресії між здоровими та ураженими тканинами [224]. Для цього дослідження було обрано комплекс або профіль, сформований з п'яти міРНК, як такі, що точно змінюють свій рівень експресії при ПД, серед яких: miR-155 та miR-142-3p валідовані у [223], miR-138-5p достовірно підвищується при ПД на експериментальній тваринній моделі [70], miR-29-3p вивчають як потенційний біомаркер для діагностики та визначення тяжкості захворювання [74], і нарешті, miR-27a-3 значно підвищена у клітинах періодонту PDLSCs при запаленні, що порушує їх здатність відновлювати кістку [101].

Інші дослідження цих міРНК, не при ПД, показують їх залученість у запальні процеси. MiR-138-5p відома залученням в процеси збірки інфламасом, клітинної міграції, і пригнічення сигналізації Sirt1 [69] та потенційної регуляції стовбурових клітини періодонту [70] однак, раніше не вивчався при пародонтиті у людини. MiR-155-5p залучена у диференціювання остеокластів альвеолярної кістки і остеогенну диференціацію PDLSCs [108,109]. MiR-29-3p має плейотропну дію на баланс

кісткової тканини [74]. MiR-142-3p, має участь в остеогенній диференціації стовбурових клітин періодонту людини та пригніченні вивільнення прозапальних цитокінів в макрофагах і дендритних клітинах [114, 225, 226]. MiR-27a-3p залучена в численні процеси, негативно регулює остеогенну диференціацію, в тому числі і в клітинах періодонтальної зв'язки, і підвищена в цих клітинах при ПД, але знижена в тканині ясен [97].

У цій роботі обрано тканини ясен як субстрат визначення міРНК щоб забезпечити надійну кількість матеріалу для дослідження, оскільки саме у ній розгортаються ключові процеси запалення/регенерації/ремоделювання при ПД. Хоча дослідження слини та ясенної рідини менш інвазивні [20, 37, 38], клітини тканин ясен є джерелом мікроРНК [20, 38, 39]. Інші дослідження, які обирали субстратом біоптати ясен, показали що вимірювання відносились до прямої оцінки ураженої ділянки, забезпечували вищу концентрацію міРНК а відтак кращу чутливість і точність та більше біологічної значущості для молекулярних механізмів. У дослідженнях ПД найчастіше використовують три біологічні матеріали для вивчення miRNA: слина, ясенна рідина і тканини ясен. Незалежно від джерела, є основні спільні етапи такі як: відбір біоматеріалу, екстракція мікроРНК, якісний та кількісний контроль, вимірювання рівнів miRNA. Методи вимірювання включають: qRT-PCR, microarray, small RNA-seq (next-generation sequencing, переважно для відкриття нових міРНК). Для клінічних вибірок qRT-PCR – найчастіше використовують завдяки чутливості, доступності і відтворюваності, ця методика була використана у даній роботі як еталонний метод кількісного аналізу експресії міРНК, який забезпечує високу чутливість і специфічність визначення навіть низьких концентрацій малих РНК у біоптатах; дозволяє надійно диференціювати приблизно 1,5–2-кратні зміни експресії, що є критично важливою особливістю при аналізі регуляторних міРНК; дає можливість стандартизувати результати відносно ендогенного контролю, що робить порівняння між зразками коректним [227].

У цій роботі не планували порівняння експресії міРНК із періодонтально здоровими яснами для встановлення їх змін при ПД, але чимало даних вже

встановили ці зміни при ПД, і вони підсумовані у табл. 4.1, де доповнені відомими чи емпірично розрахованими функціями (на лініях клітин, тваринних моделях чи у людини) і отриманими у цьому дослідженні результатами лікування ПД з додатковими курсами EGCg та куркуміну.

Як видно з таблиці, про всі міРНК дослідженого комплексу попередньо повідомлялося як про підвищені при ПД, окрім міРНК 27a-3p, яка може експресуватися по-різному. Перша колонка дає певне уявлення про можливу функцію в патогенезі ПД.

Таблиця 4.1

Відомі функції п'яти міРНК в нормі, та напрямки їх змін при пародонтиті (дані літератури) та у дослідженні під впливом лікування

міРНК	Функції в нормі	Пародонтит	Після лікування пародонтиту (власні результати, порівняння в динаміці)		
			Перша3 міс. 6 міс.	Друга3 міс. 6 міс.	Контрольна 3 міс. 6 міс.
138-5p	Пригнічення диференціювання остеобластів. Проліферація, диференціювання, міграція клітин, апоптоз	↑ на тваринній моделі [70]	↑* ↓***	↓* НД	↑ НД ↓ НД (різнонаправлені індивідуальні напрямки змін)

155-5p	Центральна роль у регуляції імунної відповіді; також: проліферація, запалення, гемопоез, ангиогенез	↑ у людини в тканинах ясен і в крові [43, 59]	↑* ↓ НД	↓* ↑НД	↑** ↓ НД, (більшість значень ↓)
29b-3p	Антифібротична роль, регуляція апоптозу, пригнічення ангиогенезу, епігенетична регуляція	↑ у тканинах ясен людини і на моделі у мишей [228]	↓ НД ↑ НД	↓НД ↑****	↓* НД (4 індивідуальні значення ↓, 6 ↑) ↑ НД (Різнонаправлені індивідуальні зміни)

142-3p	Вважається імуно-специфічною; модулює NF-κB активність (через контроль регуляторних білків), участь у регуляції cAMP-залежних шляхів, вплив на PI3K/АКТ сигналінг, регулює цитоскелет та клітинну міграцію	↑ у тканинах ясен і кривікулярній рідині людини [225]	↑* ↓*	↓НД ↑НД	НД (Різні напрями індивідуальних змін) ↑НД (більшість ↑)
27a-3p	Участь в ангиогенезі, регенерації, ремоделюванні, апоптозі, регуляції ліпідів та виробленні цитокінів, розвитку імунних клітин, та контролі запалення (через PPARγ, NF-κB)	По різному експресується у людей. ↓на 16-тиждень на моделі у мишей в ясенній тканині і слині [101, 113]	↑ НД ↓*	↓**** ↑НД	↑* (але 3 значення ↓) ↓НД (але 3 ↑)

Досліджений комплекс міРНК в яснах при ПД показав високу варіабельність експресії, непараметричний розподіл з правобічною асиметрією з меншістю високих значень. У більшості досліджень експресія miRNA у тканинах пародонтиту характеризується ненормальним розподілом та великою варіабельністю між зразками [229, 230]. Можливе пояснення – тканини, охоплені біопсією мали неоднорідний рівень і фазу запального процесу і навіть ступінь клітинної запальної інфільтрації, згідно патогенезу ПД. Отже, серед біологічних причин: це запалення та гетерогенність тканини (епітелій, фібробласти, імунні клітини, судини), але методичні причини передбачають що значення Ct (Cq) у qRT-PCR не є лінійною шкалою початкової кількості мішені, оскільки вони залежать від ефективності ампліфікації та налаштувань порога, і розподіл часто залишається ненормальним [231].

Інші дослідження на культурах клітин, тваринних моделях при ПД та при інших патологіях підсумовані у першому стовпці Табл. 4.1, і повідомляють про досліджені і передбачувані функції міРНК (зокрема, тих що досліджувались у цій роботі) і наслідки їх порушення з огляду на біологічні мішені. Так, повідомлено про основні біологічні мішені miR-138: PTEN, EZH2, SOX4, HIF1 α , CCND1, Vimentin, ZEB2, RhoC – пов'язані з проліферацією, EMT (епітеліально-мезенхімальним переходом), стабільністю ДНК [69]. За нормальних умов miR-138 бере участь в контролюванні клітинного циклу та проліферації – гальмує надмірне ділення клітин, (даунрегуляція *in vitro* мезенхімальних клітин, отриманих з кісткового мозку людини). У диференціюванні клітин – участь у формуванні нейронів, остеобластів, хондроцитів; пригнічення диференціації остеобластів [233, 234]. При апоптозі – опосередковано впливає на загибель клітин, підтримуючи тканинний гомеостаз [65]. При клітинній міграції – регулює білки, які відповідають за адгезію та міграцію. В імунній відповіді – модулює активацію клітин вродженого та адаптивного імунітету.

При інших патологічних станах показано, що miRNA-138-5p залучена в процеси збірки інфламасом, пригнічення сигналізації Sirt1, регуляцію гену

зворотної транскриптази гену теломерази людини [69]. Примітно, що miR-138 є механочутливою мікроРНК в остеобластах (механічні впливи її пригнічують) [235].

Zhou et al. (2016) встановлено, що експресія miR-138 збільшується в клітинах періодонтальної зв'язки людини (hPDL) під час запалення та пригнічує остеогенну диференціацію. Зокрема, дослідження продемонструвало, що запальні стимули, такі як LPS, IL-6 та TNF- α , підвищують експресію miR-138 у клітинах hPDL, що корелює зі зниженням фарбування лужною фосфатазою та зниженою експресією остеогенних маркерів, таких як Runx2 та OCN. Крім того, інгібування miR-138 у клітинах hPDL, оброблених LPS, частково відновлювало активність лужної фосфатази та запобігало зниженню регуляції OCN [70].

MiR-155-5p у фізіологічних умовах координує правильне функціонування вродженого й адаптивного імунітету, швидко активується у відповідь на інфекцію та запалення, а зниження її активності пригнічує надмірну імунну реакцію. При патології miR-155 має прозапальну роль, участь у аутоімунних захворюваннях.

Згідно з алгоритмом прогнозування цільових генів, hsa-miR-155 (разом з hsa-miR-146a, hsa-miR-146b), відіграє функціональну роль у регуляції, пов'язаній з TLR, при запальних захворюваннях [230]. Підтверджені біологічні мішені miR-155-5p: SOCS1, SHIP1, що є негативними регуляторами JAK/STAT, PI3K, а регуляція miR-155-5p веде до посилення запалення [236]. TAB2, MyD88, які беруть участь у сигналінгу Toll-like рецепторів, а регуляція miR-155-5p веде до посилення продукції IL-6, TNF- α , IL-1 β [237, 238]. FOXO3a, протизапальний транскрипційний фактор при регуляції miR-155-5p знижує антиоксидантний/ антизапальний ефект [239]. ДНК-метилтрансферази (DNMT) також встановлені як біологічні мішені для міРНК, а miR-155-5p призводить до пригнічення активності ферменту DNMT1 [240, 241]. Враховуючи функцію DNMT, яка веде до зниження рівнів метилювання ДНК, це може сприяти полегшенню експресії різних генів, наприклад пов'язаних з *NRF2*, що посилювало б функцію антиоксидантної системи.

У ранніх дослідження в тканини ясен пацієнтів з ПД, які не палять, віком 28-63 роки, рівень miR-155 був значно нижчим у запалених тканинах порівняно зі

здоровими контрольними тканинами, що автори пояснюють роллю у періодонтальному запаленні шляхом регуляції або взаємодії зі шляхами, пов'язаними з TLR [230]. Згідно іншим даним, при ПД рівень hsa-mir-155 вищий в тканинах ясен, порівняно із здоровими тканинами ясен [242]. Також, рівні miR-155 у зразках крові були вищі, ніж у тканинах ясен при ПД, і пов'язані з рівнем TNF- α та IL-6 [43]. Бактеріальні продукти пародонтиту, такі як ЛПС, як було показано, збільшують експресію miR-155-5p, сприяючи її перенесенню до судинних ендотеліальних клітин та стимулюючи порушення ендотеліального бар'єру та ангиогенез. Ці результати можуть лежати в основі спільного механізму ПД і серцево-судинних захворювань [59]. Daily et al. (2023) [243] показали, що у пацієнтів із супутніми серцево-судинними захворюваннями та ПД рівень експресії miR-155 у крові був у 14,08 разів вищим порівняно з контрольною групою.

Експресія miR-155 у хворій ясенній тканині при ПД, порівняно із здоровими яснами пацієнтів, була збагаченою в гематопоетичних клітинах, моноцитах, лейкоцитах, і виснажена в ендотеліальних клітинах [242]. Тим не менше, дослідження встановлюють miR-155 як регуляторну мікроРНК, яка впливає на різні аспекти запального процесу залежно від його тканинно-специфічного та стадіоспецифічного контексту [228].

Біологічні мішені miR29b3p: колагени I та III типу (COL1A1, COL3A1) – функція міРНК направлена на зниження колагеноутворення, реалізуючи колагенолітичний ефект [244]; 3' - нетрансльована ділянка MMP2/MMP9 – miR29b3p може пригнічувати експресію MMP-9 [245]. Антиапоптотичні білки (MCL-1, BCL-2) – miR29b може посилювати апоптоз [246]. Рецептор тромбоцитарного фактора росту PDGFRB – miR29b може знижувати проліферацію фібробластів [247]. VEGF, судинний ендотеліальний фактор росту, SIRT1 (сіртуїн 1) – miR29b може знижувати ангиогенез [248, 249]. Члени родини miR-29 можуть впливати на DNMT в контексті рака [250, 251].

MiR-29a,b,c при ПД підвищена у тканині ясен у людей, її експресія збагачена в гематопоетичних клітинах, мононуклеарах, лімфоцитах. І виснажена в ендотеліоцитах, епітеліоцитах, фібробластах [оглянуто у 228].

Відомі біологічні мішені miR142-3p: RAC1 та ROCK2, через які відбувається регуляція цитоскелету та міграції [252]. SOCS6 – пряма мішень miR142-3p [225, 226]. SOCS6 зазвичай “гальмує” JAK2/STAT3-шлях – ключовий у запаленні, рості та виживанні клітин. miR-142-3p, пригнічуючи SOCS6, може діяти як про-запальний або про-проліферативний модулятор, залежно від клітинного контексту. MiR-142-3p безпосередньо регулює протеїнкіназу Ca (PKCa), ключовий ген, який бере участь у фагоцитозі [114].

SGK1 є передбачуваною та частково валідованою мішенню miR-142-3p, проте це залежить від типу клітин і моделі. В експерименті на культурі стовбурових клітин періодонту людини miR-142-3p пригнічує їх остеогенну диференціацію шляхом зниження експресії кінази SGK1 [115]. Але в культурі клітин ясенного епітелію людини індукована дією TNF- α підвищена miR-142 відіграє певну роль у запуску апоптозу. Цей ефект опосередковується здатністю miR-142 пригнічувати експресію BACH2 [62].

Нещодавні дослідження тканини ясен у пацієнтів з ПД і на моделі індукованого лігатурою ПД у присутності *P.gingivalis* у мишей, показали що періодонтопатогенне навантаження та експресія запальних цитокінів спостерігалися в запалених яснах з вищою експресією прозапальної miR-155 та зниженими рівнями протизапальної miR-142-3p. Це підтверджує активацію NF κ B та зниження регуляції PU.1, що свідчить про чітку роль осі miR та транскрипційних факторів. Зниження регуляції PU.1, транскрипційним фактором miR-142, опосередковане miR-155, пригнічувало транскрипцію miR-142, тим самим полегшуючи заглушення IL-6, опосередковане miR-142-3p. Локальна доставка miR-142-3p знижувала IL-6 (на моделі у мишей). Це може мати значення при ПД [253]. Для інтерпретації отриманих даних – ці результати свідчать про протилежні напрямки векторів впливу miR-155 і miR-142-3p при ПД.

miR-142 загалом підвищена при ПД, порівняно із здоровими яснами, але збагачена в гематопоетичних клітинах, лейкоцитах, лімфоцитах і виснажена в епітеліюцитах, фібробластах [оглянуто у 228].

Серед біологічних мішеней miR-27-3p – нейроонкологічний вентральний антиген 1 (NOVA1, neuro-oncological ventral antigen 1), роль якого показана у нещодавньому дослідженні – у сприянні функціонування фібробластів [254], але він відіграє ключову роль у розвитку нервової системи та регулюванні генної експресії. miR-27 бере участь в ангіогенезі, апоптозі, регуляції ліпідів та виробленні цитокінів [94, 255, 256]. Інші відомі біологічні мішені miR-27-3p: PPAR γ , від якого залежить регуляція адипогенезу, метаболізму глюкози, протизапальних реакцій [257]. RUNX1 (Runt-related transcription factor 1) [258], що робить внесок у контроль розвитку імунних клітин, гематопоез. FOXO1 (Forkhead box protein O1) [259] – регуляція апоптозу, гомеостазу, окисного стресу. IGF1–стимулює ріст клітин, диференціацію та загоєння тканин [101]. Wnt/ β -catenin pathway genes (Wnt3a, Fzd7, β -catenin) – регулюють клітинну проліферацію, канцерогенез та розвиток тканин [260]. MMP13– деградація позаклітинного матриксу (важливо при артриті, метастазах та ПД) [261].

MiRNA-27 також бере участь у пригніченні шляху Nrf2 [262]. Відома своєю роллю в патогенезі фіброзу, раку, даунрегульована при системній склеродермії. [263] Знижена при ЧПЛ на слизовій рота [264].

При ПД miR-27a-3p відіграє роль, потенційно впливаючи як на прогресування захворювання, так і на реакцію організму на нього. Дослідження показують, що miR-27a-3p диференційно, тобто по різному, експресується у пацієнтів з пародонтитом і пов'язана з інфільтрацією імунних клітин [265]. miR-27a-3p пригнічує остеогенну диференціацію, і її підвищені рівні можуть зменшити втрату кісткової маси на моделях пародонтиту у тварин, що свідчить про її захисний ефект на кістку в цьому контексті [97]. miR-27a-3p (та miR-15a-5p) знижується на 16-тиждень у тканинах ясен і слині *T.forsythia*-інфікованих мишей з експериментальним ПД [113].

Дослідження miRNA у запаленій ясенній тканині виявило специфічні miRNA (miR-130a-3p, miR-142-3p, miR-223-3p) а подальший функціональний аналіз показав, що ці miRNA прямо регулюють експресію ключових генів (наприклад MET) та впливають на клітинну міграцію, проліферацію та ремоделювання у

первинних фібробластах ясен [117], що показує, як комплекс міРНК, індукований запаленням тканин ясен, запускає певні функціональні механізми і може залучати вісь цитокінів.

У цій роботі виявлено при ПД кореляції які достовірно підтвердили зв'язки між глибокими ділянками та відносно нижчими рівнями експресії міРНК 29b-3p ($p=0,04$, $r=0,85$; кореляція Спірмена, Табл. 3.5), що може пояснюватись її залученістю до регуляції сигналізації при колагеноутворенні, проліферації, апоптозі, як описана за даними інших дослідників вище. Інші роботи виявляли також кореляції рівнів міРНК з клінічними параметрами [229]. Так, геномний miRNA-профайл тканин ясен пацієнтів з ПД, виявив 177 диференційованих miRNA в уражених тканинах порівняно з контролем і було показано, що рівні цих miRNA в тканинах корелюють із клінічними параметрами такими як PPD, BOP, CAL. Однак, рівні miR-140-3p, -145-5p та -125a-3p у яснах були незалежно пов'язані з наявністю та тяжкістю ПД. Рівні цільових мікроРНК у слині та плазмі крові були по-різному пов'язані з ПД. Подібні асоціації мікроРНК з ПД спостерігалися серед учасників з ревматоїдним артритом та без нього [229]. Ще одне дослідження з крос-секційним дизайном [43] показало позитивні кореляції між рівнем експресії miR155 та PD, CAL та генами TNF α і IL6 у тканинах ясен.

У цій роботі, встановлено, що до початку лікування ПД, міРНК 27a-3p негативно корелювала з 155-5p, 29b-3p, та позитивно – з 142-3p, ще, три мікроРНК мали позитивні зв'язки з високим коефіцієнтом кореляції: 138-5p 155-5p і 29b-3p. Ці результати узгоджуються з літературними даними, які демонструють ко-експресію медіаторних міРНК при періодонтальних ураженнях: нещодавні профілі мікроРНК у хворих на періодонтит показали, що низка miRNA, включно з miR-155-5p та miR-29b-3p, мають підвищену експресію в уражених тканинах і можуть бути взаємопов'язані в загальній регуляторній мережі (панель «5-miRNA»), де між окремими транскриптами спостерігали позитивні кореляції та групування за патогенетичними шляхами при аналізі кореляційної матриці [74].

Очевидно, що охарактеризовані порушення експресії міРНК при ПД можуть бути пов'язаними з клінічною маніфестацією ПД, як підсумовано у табл. 4.1, але можуть бути і мішенями для терапії [266]. Хоча терапевтичне таргетування міРНК для лікування захворювань пародонту все ще перебуває на початковій стадії, переконливі докази цього принципу надаються дослідженнями імунних захворювань та імунних відповідей до пухлин на тваринних моделях [267].

Отже, міРНК мають важливу роль у складних мережах, пов'язаних з імунними відповідями, каскадами запалення, фагоцитозом, апоптозом, ангіогенезом, регенерацією, антиоксидантною системою в різних клітинах, на молекулярному рівні, що відображає як різноманітні захворювання мають спільні механізми і точки перетину патогенезу. Порушення експресії міРНК при ПД потрібно модулювати з метою врегулювання.

Останнім часом концепція модуляції метаболізму в лікуванні хронічних захворювань, включаючи ПД, за допомогою нутрицевтиків стала більш перспективною [177, 268-277]. За рахунок своїх плеiotропних біологічних ефектів, включаючи протизапальні та антиоксидантні властивості, EGCg та куркумін, як показано нещодавно, можуть модулювати експресію мікроРНК [5, 7, 176, 179, 182], а також діяти через вісь цитокінів [270] тим самим впливаючи на ключові молекулярні шляхи, що беруть участь у запаленні, імунній регуляції та ремоделюванні тканин [178, 182]. Ці властивості також роблять куркумін та EGCg перспективними додатковими засобами для лікування хронічних запальних станів, таких як ПД.

В цій роботі досліджено EGCg та куркумін (у вигляді курсів препаратів, схвалених фармаконаглядом і дозволених в Україні) прийом яких у вищих дозах, згідно інструкцій, було застосовано в двох групах пацієнтів при терапії ПД, а контролем ефективності були пацієнти з суто періодонтальним лікуванням без системних ліків чи добавок і без змін у дієті. Обидва з цих препаратів є флавоноїдами, які містяться у рослинах і широко відомі як антиоксиданти, чи нутрицевтики, або біологічно-активні добавки харчування, але визначення їхньої

клінічної ефективності в комплексі періодонтальної терапії є важливим трансляційним пріоритетом.

В цій роботі було встановлено вплив EGCg та куркуміну (у якості додаткової системної терапії при ПД) на локальні рівні міРНК, а також на клінічні показники і локальні рівні цитокінів в яснах.

Повертаючись до таблиці 4.1, після курсу EGCg на 3й міс. достовірно підвищились miR138-5p, miR 155-5p та miR 142-3p (Рис. 3.31, 3.32 та 3.34). На 6й місяць – достовірно знизилась miR138-5p, miR 142-3p та miR 27a-3p (3.35), але без достовірності порівняно з вихідними даними. Після курсу куркуміну – достовірно знизилась miR138-5p, miR 155-5p та miR 27a-3p і потім, на 6й міс., підвищилась miR 29b-3p, але в цій точці статистика не вловила достовірності при порівнянні з вихідними даними (Рис. 3.39-3.43). Інші дослідження, які оцінювали б динаміку змін міРНК після лікування ПД, і під впливом біофлавоноїдів, наразі відсутні.

Суто періодонтальне лікування призвело до достовірного підвищення рівнів miR 155-5p і miR 27a-3p, на 3й місяць. Зниження спостерігалось на 6й місяць, і хоча статистика не вловила достовірності, більшість індивідуальних траєкторій змін показали зниження для miR 155-5p (Рис. 3.20 б) і для miR 27a-3p (Рис. 3.23 б). В дослідженні Radović та співавт. (2018) було показано, що рівні miR-146a та miR-155 у кривікулярній борозні значно знижуються після неінвазивного періодонтального лікування та наближаються до рівнів у здорових учасників, що свідчить про зменшення локального запалення [278]. Однак необхідні додаткові дослідження з більшими вибірками для оцінки динаміки специфічних miRNA, таких як miR-155-5p і miR-27a-3p, після лікування [279]. Наразі відсутні опубліковані клінічні дослідження, що оцінюють зміни конкретних miR-155-5p чи miR-27a-3p у певні часові точки (наприклад, через 3 місяці) після стандартного не-хірургічного періодонтального лікування. Існуючі публікації здебільшого мають дизайн case-control без довгострокового спостереження після терапії. Є клінічні протоколи, що планують оцінювати зміни miRNA після лікування протягом тривалого часу, але результати ще не опубліковані [279].

Ми виявили зміни рівнів експресії міРНК, серед яких miR-155-5p і miR 27a-3p реагували на всі втручання, починаючи з періодонтального лікування, переважно у короткий термін 3 місяці. Але на відміну від повідомлень [278], рівні miR-155-5p достовірно підвищувалась. Також в короткий термін, додатково у відповідь на вплив EGCg змінювались miR138-5p, та miR 142-3p; і на вплив куркуміну – miR138-5p. У перспективі 6 міс., яка означає тривалість ефекту у цьому дослідженні, знижені рівні експресії miR-27a-3p були виявлені після додаткового курсу куркуміну.

Базуючись на достовірних розбіжностях між групами, (що й визначає реальні переваги нових стратегій таргетного лікування), у короткий термін 3 місяці miR138-5p була на нижчому рівні після куркуміну порівняно з EGCg, miR-155-5p на найнижчому рівні, порівняно з двома іншими групами, miR 142-3p на нижчому рівні порівняно з EGCg, достовірно. Після EGCg зареєстровано навпаки, вищі рівні miR138-5p, miR-155-5p порівняно з куркуміном, найвищий рівень miR 142-3p та miR-27a-3p порівняно з куркуміном (Рис. 3.63). Отже, на рівні експресії цих міРНК впливають як EGCg, так і куркумін, причому у різних напрямках. Для пояснення цих різноспрямованих результатів і враховуючи складні каскади, в яких задіяні конкретні міРНК, ми наводимо дані інших дослідників щоб зрозуміти механізми, які лежать в основі клінічного покращення після лікування ПД.

Спочатку розглянемо наслідки суто періодонтального лікування. За даними [59] про зв'язок miR-155-5p з ССЗ, підвищення місцевих рівнів цієї міРНК може пояснюватись впливом загальних захворювань, тобто системним чи циркулюючим запаленням [59]. Згідно даних [242], який свідчить про зміну фаз запалення/ремоделювання при ПД і різний ступень клітинної інфільтрації ясен, підвищення рівнів міРНК також може бути пояснене цими подіями. Хоча клінічне місцеве покращення відбувалося і задокументовано у цій групі пацієнтів (Розділ 3). Отже, це підвищення може бути несприятливою ознакою персистуючого запалення і може розглядатися ще і у призмі різних функціональних наслідків відповідно до клітин-джерел цього miR-155-5p.

Участь міРНК на різних стадіях реакції хазяїна на бактеріальні інфекції сильно залежить від клітинного контексту, причому різні типи клітин по-різному реагують на один і той самий патоген [280]. Тож, зміни у складі під'ясенної біоплівки після професійних втручань та внаслідок оптимізації домашньої гігієни також можуть бути причетними до клінічного покращення, при збереженні прозапальних системних потенціалів.

Luan та ін. (2018) провели огляд відповідних мікроРНК, їх генів-мішеней та функцій генів-мішеней в імунних клітинах та їхня передбачувана регуляторна роль у тканинах пародонту [228] що дозволило підсумувати такі наслідки для ряду міРНК у запалених яснах. Так, miR-155 підвищена в нейтрофілах в умовах запалених ясен; має за мішень гени *FGD4*, *Rac1* (які кодують ГТФ-ази, які служать молекулярними перемикачами для регулювання клітинних процесів, включаючи організацію цитоскелета і пов'язані функції), має ймовірну регуляторну роль – еміграція нейтрофілів.

miR-155 підвищена в макрофагах в умовах запалених ясен – має за мішень ген *MAP3K10*, (який кодує кіназу, пов'язану із запальним шляхом), з ймовірною регуляторною роллю мікроРНК у тканинах пародонту – функція ендоцитозу.

miR-155 підвищена в ДК в умовах запалених ясен – має за мішень *c-FOS*, *PU.1* (фактори транскрипції), з ймовірною регуляторною роллю мікроРНК у тканинах пародонту – визрівання ДК, а також ген-мішень *SOCS-1*, який є негативним регулятором сигналізації ІЛ-2, а міРНК ймовірно регулює визрівання ДК і зв'язування патогенів.

miR-155 підвищена в Т-клітинах в умовах запалених ясен – має за мішень ген *SOCS-1* (інгібітор STAT5-сигналіngu), з ймовірною регуляторною роллю міРНК у тканинах пародонту – підтримання гомеостазу і функції Treg; а також ген *INF-γRA* (цитокінового рецептора) з ймовірною регуляторною роллю по пригніченню Th2 диференціювання.

І нарешті, miR-155 підвищена в В-клітинах в умовах запалених ясен – має за мішень ген *AID*, (потенційний мутатор ДНК), з ймовірною регуляторною роллю мікроРНК у тканинах пародонту – визрівання афінності антитіл [оглянуто у 228].

З огляду на розсортовані за типами клітин наслідки збільшення експресії miR-155-5p, у цьому дослідженні після стандартного періодонтального лікування, може відображати триваючу імунну відповідь, можливу зміну її фаз, що йде паралельно з клінічним покращенням на 3й місяць.

Враховуючи захисний потенціал miR-27a-3p від кісткової деструкції та інші механізми диференційної експресії при ПД [97, 265], підвищення на 3й місяць після звичайного періодонтального лікування може відображати сприятливу компенсаторну реакцію, але може бути і ознакою персистенції запалення. А також може бути наслідком зниження мікробного локального навантаження [113].

На 6й місяць після періодонтального лікування практично всі міРНК з визначеного комплексу мали зворотні до попередніх змін напрямки, при яких, щоправда, не було вловлено статистичної достовірності, тобто рівні поступово повертались до вихідних даних (Табл. 4.1). Таким чином, суто періодонтальне лікування впливає на рівні міРНК, що спостерігається паралельно з певним клінічним покращенням. Тому саме порівняння між групами дійсно могло врівноважувати цей ефект і виділяти вплив EGCg або куркуміну у першій та другій групах, відповідно.

Важливою знахідкою в роботі було те, що рівні експресії в експериментальних групах відрізнялися за кількома міРНК від стандартного лікування (Рис. 3.63). Це глобально означає що обрані препарати впливають на експресію міРНК в тканинах ясен пацієнтів з ПД.

Після курсу EGCg через 3 місяці від суто періодонтального лікування відрізнялись лише рівні miR 142-3p, хоча інші міРНК (miR138-5p, miR 155-5p та miR 27a-3p) були достовірно підвищені порівняно з прийомом куркуміну. miR-142-3p, як показано, реалізує протилежні ефекти на IL-6, залежно від клітинного контексту, а її підвищення у тканинах ясен при ПД може призводити до пригнічення SGK1 та IL6ST (протизапальний ефект), але водночас – до активації IL-6 через SOCS6/NF-κB (прозапальний ефект) [225]. Підвищена в тканинах ясен при ПД, експресується в макрофагах, націлена на *PKCα*, *CD163*, *CD206* (які кодують протеїни- компоненти PRR сигналіngu) і бере участь у пригніченні NF-κB

активації. Крім того, miR-142 експресована в ДК, націлена на *PKCa*, *CD14*, *TLR4*, *MD-1* (які кодують компоненти PRR сигналіngu) і також сприяє пригніченню NF-κB активації [228]. Всі разом наведені дані і власні результати вказують, що вплив EGCg по підвищенню miR-142-3p може показувати активне пригнічення запальної деструкції.

Після курсу EGCg через 6 місяців жоден рівень міРНК не відрізнявся від групи періодонтального лікування, що демонструє короткостроковий ефект впливу на міРНК використаного в нашій роботі курсу.

Після курсу куркуміну через 3 місці лише рівні miR 155-5p та miR 27a-3p відрізнялись від суто періодонтального лікування, хоча інші міРНК (miR138-5p, miR-142) були достовірно знижені порівняно з прийомом EGCg. Ті ж самі міРНК залишались без різких статистично значущих змін і на бй міс., (при дещо спекулятивному «поздовжньому» у часі порівнянні) що можна розцінювати як позитивний ранній і тривалий ефект куркуміну (який розвинувся майже по закінченню лікування і тримався і на бй місяць включно), враховуючи що всі досліджені міРНК підвищені при ПД (Табл. 4.1). Тим не менше, на рівні «між групами» на бй міс. лише рівні miR 27a-3p були достовірно знижені, порівняно з періодонтальним лікуванням. Зниження рівнів експресії цієї міРНК міг забезпечувати вплив куркуміну.

Аналізуючи «поздовжню» динаміку під впливом куркуміну, рівні експресії міРНК 29b-3p у тканинах ясен дещо знижувались на візит 3 місяці (НД), але достовірно підвищувались на візит 6 місяців (Рис. 3.45), що може свідчити як про певну активність ПД, так і про обмеження рубцювання/ремоделювання, враховуючи мішені цієї міРНК [244, 247- 249].

В цій роботі за первинні критерії правила зміни PPD (за зміною PPD на 1 мм проводили статистичний розрахунок вибірки, а також розраховували відсоток «закриття кишень»). Вторинними критеріями були всі інші клінічні параметри та молекулярні біомаркери: зміни пропорцій CAL, BoP, нальоту і балів ОНІР-14, а також зміни експресії комплексу міРНК та профілю цитокінів.

Ми обрали для клінічної оцінки результатів дослідження у цій роботі дещо інші, оновлені показники у вигляді пропорцій порогових значень, які дозволяють відображати найважливіші зміни [217].

Повний періодонтальний запис, який включає вимірювання в шести місцях на кожному зубі на 28 зубах, за винятком третіх молярів, наразі вважається золотим стандартом клінічних обстежень [281]. Протоколи часткового періодонтального запису дають упереджені оцінки поширеності та тяжкості захворювань пародонту, а звітування про використану часткового протоколу впливає на висновки щодо недооцінки або переоцінки поширеності уражень, а також оцінок ступеня та тяжкості [цитуються по 217].

Для вимірювання періодонтальних глибин ми використовували мануальні зонди, оскільки немає даних що електронні зонди забезпечують суттєво меншу похибку вимірювання [210].

Інші дослідження, включаючи сучасні клінічні, звіти про які публікуються у журналах з високим імпакт фактором використовують періодонтограми для реєстрації базових сурогатних показників [282]. Проведений нами раніше структурований огляд літератури баз даних PubMed та Google Scholar за один рік, з 1.01.2023 року до 4.07.2024, дозволив проаналізувати методи клінічних досліджень і виділити саме критерії для порівняння (Табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Дані екстраговані з включених в огляд англomовних джерел

Клінічні критерії хронічного періодонтиту	Дизайн досліджень, реєстрація	Достовірність відмін між ланками дослідження на кінець випробування	Джерела
Індекс нальоту за Silness P. Loe H, 1964	Рандомізовані контрольовані клінічні дослідження. Зареєстроване	Достовірні, окрім [283-285]	[218, 282-292]

Маргінальний індекс нальоту	Рандомізоване клінічне. Зареєстроване	НД	[293]
Індекс бактеріального зубного нальоту за Turesky-Glickman модифікований Quigley	Квазі-експериментальне	Достовірні	[294]
Клінічний рівень прикріплення (CAL) та/або глибина при пробі (PPD)	Рандомізовані клінічні. Зареєстровані. Квазі-експериментальне [294]	Достовірні, окрім [284, 286, 289, 292, 294, 295]	[218, 282-292, 294-306]
Гінгівальний індекс (GI) за Löe and Silness, 1963	Рандомізовані клінічні. Зареєстровані	Достовірні, окрім [285]	[218, 282, 283, 285-289, 291, 292, 296, 300, 301, 303]
Періодонтальна запалена поверхня за алгоритмом Nesse et al. 2008, Hei (1970)	Квазі-експериментальне	Достовірні	[294]
Відсоток періодонтальної глибини кишень $\geq$ 4 мм	Рандомізоване клінічне. Зареєстроване	Достовірні	[298]
Висота кістки виміряна за допомогою паралельного цифрового променевого дентального знімку	Не зазначено	НД	[284]

Кровоточивість при пробі (ВОР)	Рандомізовані клінічні дослідження. Зареєстровані. Квазі-експериментальне [294]	Достовірні, окрім [218, 284, 292]	[218, 282, 284, 291, 292, 294, 295, 298-300, 304, 305]
Середній показник індексу папілярної кровоточивості усіх ділянок	Рандомізоване клінічне, зареєстроване	НД	[289]
Індекс кровоточивості борозни (Muhlemann and Son, 1971) або модифікований індекс сулькулярної кровоточивості [302]	Рандомізовані клінічні. Зареєстровані	Достовірні	[283, 297, 302]
Ясенний індекс кровоточивості (Ainamo & Bay 1975)	Контрольоване «split -mouth» клінічне. Зареєстровані	Достовірні	[287, 290]
Кровоточивість при чищенні міжзубних проміжків	Рандомізовані клінічні	НД	[293]
Оцінка тестованого лікувального агенту за візуальною аналоговою шкалою (ВАШ); шкала самоефективності для догляду за порожниною рота; рівень болю/дискомфорту за	Рандомізовані клінічні. Зареєстровані, окрім [283], дизайн і реєстрація в якому не повідомлені	НД, окрім [298, 306]	[218, 284, 292, 298, 299]

ВАН			
-----	--	--	--

НД – тут і далі, не достовірні відміни.

Індекс нальоту, PPD, CAL, BoP та індекс гінгівіту використовує абсолютна більшість сучасних досліджень.

Також, візуальні аналогові шкали та подібні інструменти всі частіше включають у дослідження як один з істинних показників, який показує чи відчуває пацієнт покращення, оскільки зміни PPD чи CAL можуть відбуватись непомітно для пацієнта. В нашому дослідженні, анкетування OHIP-14 допомогло встановити що пацієнти добре сприймають додаткові речовини у комплексі лікування ПД і проявляють високу прихильність, але лише протягом 3 місяців (Розділ 3). Що добре узгоджується з іншими дослідженнями, які досить широко, достовірно і наглядно відображають які саме показники є відчутними для пацієнтів, і наскільки це важливо з огляду на виховання пацієнта-експерта [33, 307].

Сурогатні кінцеві точки періодонтальної терапії мають клінічне значення, але можуть не надавати доказів того, що певне лікування приносить конкретну користь пацієнту. До них відносять: 1) зменшення глибини зондування та збільшення рівня клінічного прикріплення: клінічне значення; 2) ознаки запалення ясен і кровоточивість ясен при пробі – має клінічне значення і значення як показника системного запалення. Істинні кінцеві точки надають уяву про відчутну користь/задоволення для пацієнта: 1) втрата зубів; 2) біль; 3) жувальна здатність;

4) естетика; 5) рівень якості життя, пов'язаний зі здоров'ям порожнини рота. Згідно з дослідженням [308], біль/дискомфорт у ротовій порожнині, дієтичні обмеження та зовнішній вигляд зубів корелюють із поганим станом періодонту [33]. Тому дослідження, які включають самооцінку пацієнтом власного стану за допомогою інструментів, таких як анкета ОНІР-14, чи візуальна аналогова шкала є важливою задачею, досвід вирішення якої містять 5 відібраних для аналізу англomовних джерел, одне з яких є публікацією в журналі Scopus першого квартилю (Табл. 4.2, [218]). Застосування самооцінки пацієнтом є також і способом об'єктивізувати скарги і виміряти їх зміни після лікування, що також покаже чи відчув пацієнт користь від лікування.

Натомість, в українські автори, традиційно використовують ряд клінічних показників, які дублюють дані періодонтограми або несуть менше інформації порівняно з періодонтограмою, при цьому вимагаючи додаткових зусиль на їх вимірювання, запис і розрахунки, це індекси такі як: ПМА з пробою Шиллера-Пісарєва, часткові індекси гігієнічного стану, періодонтальний індекс Russel, CRITN, вакуумна проба за Кулаженко; комплексний періодонтальний індекс за Леусом; індекс кровоточивості ясен за Мюлеманом; інтердентальний індекс Rateitchak (Табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Дані екстраговані з включених в огляд українських джерел

Клінічні критерії при хронічному періодонтиті	Дизайн, реєстрація	Достовірність відмін між ланками дослідження на кінець випробування	Джерела
Індекс гігієни за Greene J. Vermillion J., 1964 (OHI-S)	Інтерв'ю/клінічні	Достовірні [309, 310]. В інших не обчислювали	[309-312]
Тест гігієни о'Лірі	НЕ зареєст	Достовірність між ланками дослідження не обчислювали	[313, 314]

Гігієнічний індекс Silness-Loe і Stallard	ровані, без протоколу, але ці дані не вимагаються і не зазначаються авторами у публікаціях	Достовірність між ланками дослідження не обчислювали	[314]
Індекс ПМА папілярно-маргінально-альвеолярний за С. Parma, 1960; у поєднанні із пробою Шиллера-Писарева, 1989); у поєднанні, або без показника числа Свракова		Порівняння між ланками дослідження не проводили, окрім [309] – де різниця достовірна	[309, 311, 312, 314]
Періодонтальний індекс за A.L. Russel, 1956		Достовірність між ланками дослідження не обчислена. Достовірні [309, 310]	[309, 310, 313]
Глибини зондування в онлайн-програмі від UAP		Достовірність між ланками дослідження не обчислювали	[313, 314]
Максимальна глибина пародонтальних кишень		Одна ланка дослідження	[311]
Індекс CRITN		Діагностичне використання	[311, 312]
Папілярний індекс кровоточивості (PBI) за Saxer і Muhlemann, 1975, або за Muhlemann і Son		Достовірні	[309, 310]
Індекс кровоточивості при зондуванні (BoP)		Не обчислювали	[313, 314]
Вакуумна проба стійкості капілярів ясен за методикою Кулаженко В.І.		Статистичне порівняння між ланками не планувалось	[312]

У нашому дослідженні було використано розраховані з періодонтограми клінічні параметри у вигляді співвідношень порогових значень PPD, CAL, а також BoP, індексу нальоту. Крім того, ми використали анкетування OHIP-14. Згідно рекомендацій, описаних у [217], поширеність та ступінь руйнування періодонту ми

оцінювали за допомогою заздалегідь визначених клінічних порогів, включаючи PPD 1-3 мм, 4-5 мм та ≥ 6 мм та CAL ≥ 3 та ≥ 4 мм, що відображають помірне та тяжке ураження періодонту, з тією відміною, що у цих авторів поширеність (prevalence) визначалася як частка учасників, у яких принаймні одна ділянка мала PD ≥ 4 мм або ≥ 6 мм та/або CAL ≥ 3 мм або ≥ 5 мм. Ступінь визначався як співвідношення порогових значень уражених ділянок на одного учасника. Як і в цих рекомендаціях, ми вважали порогові значення PPD ≥ 4 мм та CAL ≥ 3 мм показниками клінічно значущої пародонтальної патології, тоді як PPD ≥ 6 мм та CAL ≥ 4 мм відображали прогресуюче руйнування періодонту.

Після рандомізації учасників дослідження на три групи, з врівноваженням за віком, статтю, ступенем ПД та загальними захворюваннями, виявилось, що групи були не врівноважені за пропорціями порогових значень, тобто за реальною тяжкістю, тому що рандомізацію проводили за показником поширеність (prevalence, не враховуючи всі вимірювання). Різні співвідношення порогових значень уражених ділянок на одного учасника, відображають різну ступінь руйнувань внаслідок нерівномірного руйнування періодонту, хоча згідно клінічних критеріїв визначення ступенів ПД, вони були однакові якщо визначати їх як принаймні одну ділянку PD ≥ 4 мм, або ≥ 6 мм та/або CAL ≥ 3 мм або ≥ 5 мм відповідно до середнього та тяжкого. Отже, отримані результати нашого дослідження пояснюються неузгодженістю критеріїв визначення тяжкості ПД згадані у [217].

Також, у [218] відзначено, що використання співвідношень порогових значень може повніше врахувати всі вимірювання, однак результати показали нерівномірність уражень при ПД і різну тяжкість в межах клінічно діагностованої при скринінгу. Таким чином, ці розбіжності у дослідженні були враховані для міжгрупової оцінки траєкторії змін (у динаміці) під час T2 і T3.

Процитовані вище [217] і ще одна важлива фундаментальна публікація [207] свідчать на користь того, що порівняння клінічних параметрів в динаміці доцільно проводити без усереднення PPD та CAL враховуючи, що 6 вимірювань на зуб

складає приблизно 12% можливих імовірних точок для вимірювання. І підтримує наш підхід у цій роботі.

Для верифікації діагнозу і клінічного спостереження при ПД, періодонтограма є невід'ємною, тому що забезпечує тривимірну діагностичну модель: 1) стадія/складність лікування, 2) ступінь/швидкість прогресування плюс супутні захворювання та стани, 3) прогноз ризику прогресування. Для клінічних досліджень періодонтограма незамінна, тому що: 1) дозволяє співвідносити клінічні вимірювання з додатковими маркерами; 2) провести окремий аналіз динаміки порогових значень кишень та/або втрати прикріплення; 3) провести аналіз динаміки у вигляді повного варіаційного ряду, без усереднення значень глибини кишень чи клінічної втрати періодонтального прикріплення, 5) обґрунтувати пацієнту інтервал між сеансами терапії або контрольних візитів.

Наше дослідження дозволило встановити клінічні переваги періодонтального лікування із додатковим курсом EGCg: по зменшенню пропорції помірних глибин 4-5 мм у короткостроковій перспективі 3 міс; та по збільшенню % закритих кишень (але і куркумін також мав аналогічний, хоч і менш виражений ефект). Рандомізовані клінічні дослідження EGCg як ад'юванту до періодонтального лікування [315.] також показали ефективність EGCg під час SRP у пацієнтів з хронічним ПД.

Це подвійне сліпе клінічне дослідження з розподілом втручань у межах однієї порожнини рота (split-mouth design) показало, що додавання EGCg допомогло досягти додаткового зменшення глибин кишень ≥ 2 мм і виграшу CAL, а також зміни в складі субгінгівальної мікрофлори (зниження *Tannerella forsythia*) по 6й міс. спостереження. Ключові дані: додаткове зменшення PPD $\approx 0,33$ мм, виграш CAL $\approx 0,3$ мм, приблизно 8% більше закритих кишень ≥ 2 мм, ніж у контролі. Експериментальне дослідження показало, що EGCG ефективно пригнічує ріст та метаболізм бактерій, пов'язаних з періодонтитом (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella* spp. тощо), що підтверджує потенціал EGCG для контролю субгінгівальних патогенів [316]. Це важливо для пояснення можливого зменшення кількості глибоких кишень та покращення закриття через антибактеріальну дію.

Наше дослідження дозволило встановити клінічні переваги періодонтального лікування із додатковим курсом куркуміну: по зниженню BoP (хоча і EGCg також показав менш виразну ефективність) протягом терміну 6 міс; та покращення співвідношення порогових значень CAL $\geq 3/\geq 4$ мм (у короткостроковій перспективі 3 міс). Клінічне дослідження ефективності куркуміну (curcumin oral gel) як додатку до SRP показало суттєве зниження кровоточивості при зондуванні (BoP) та покращення інших параметрів (PI, GI, PPD, CAL), що пов'язано з анти-запальною дією куркуміну [317]. Рандомізоване клінічне дослідження (РКД) показало, що локальне застосування куркумін-гелю після SRP призводить до значного покращення клінічних параметрів (зокрема зниження PPD та тенденція до кращих CAL порівняно з контролем) [318]. Ще одне РКД [319] продемонструвало, що субгінгівальна аплікація куркумін-гелю поряд із SRP дає клінічне вигоду в зниженні запалення протягом обмеженого періоду, включно з поліпшенням CAL та зниженням PPD, хоча різниця з контролем не завжди досягала статистичної значущості. І ще одне нещодавнє РКД [286] показало, що куркумін-гель підсилює покращення клінічних параметрів, включно з CAL та PPD, порівняно із SRP, а також знижує запальні біомаркери (прокальцитонін).

Систематичний огляд куркуміну та його ефективності [320] охопив 27 РКД і показав, що локально доставлений куркумін у складі SRP має ліпші клінічні результати, включно з зниженням PPD та позитивними змінами в CAL, хоча ефекти були варіабельними в окремих дослідженнях.

Мета-аналіз клінічних ефектів куркуміну, щоправда знов-таки у вигляді локальної доставки куркуміну у терапії ПД виявив позитивний, але невеликий покращений вплив на CAL у порівнянні із SRP [321].

Отже, порівнюючи зниження BoP (6 міс), подібні результати при застосуванні куркуміну повідомлені в РКД з аплікацією геля [317], подібне покращення CAL $\geq 3/\geq 4$ мм (3 міс) відзначено в інших РКД та систематичних оглядах, де показано позитивні зміни CAL при додатку куркумін-гелю [320].

Про анти-запальний ефект куркуміну як природного анти-запального агента свідчить багато клінічних досліджень, які вказують на зниження GI/BoP після застосування куркуміну [322].

Про зниження індексу кровоточивості (BI) через 12 тижнів під впливом EGCg, який додавали як розчин-охолоджувач під час ультразвукового SRP, у подвійному сліпому РКД повідомляють Zeng et al. (2022) [315]. Хоча у цей короткий термін, зміни PPD та CAL були подібними між групами. Висновок авторів: EGCg може мати протизапальний ефект, що проявляється в зниженні індексу кровоточивості в короткостроковій перспективі.

В цьому дослідженні при обох додаткових курсах проявився ефект по зменшенню глибоких ділянок та зменшення балів ОНІР-14-анкетування з приблизно однаковим розміром і тривалістю згідно періодів дослідження, порівняно із суто періодонтальним лікуванням. На даний час немає великої кількості досліджень, які безпосередньо вимірюють ОНІР-14 після додаткового використання саме EGCg або куркуміну як компонентів терапії. Проте є важливі спостереження [323], які показали, що класичне не-хірургічне періодонтальне лікування значно покращувало показники ОНІРQoL (ОНІР-14) у 6-місячній динаміці в пацієнтів з хронічним періодонтитом. Ці дані корисні як базова точка порівняння, що додаткові курси EGCg і куркуміну також впливали на зниження ОНІР-14 приблизно у той самий часовий період, що і основне періодонтальне лікування. В нашому дослідженні при періодонтальному лікуванні у контрольній групі також значно покращувались показники ОНІР-14 анкетування, але з достовірністю тільки у короткій перспективі 3 міс (Табл. 3.12).

У цьому дослідженні, при вище обговорених позитивних клінічних ефектах у групах з використанням флавоноїдів, підвищувався індекс зубного нальоту. Куркумін як ад'ювант має потенціал поліпшувати клінічні параметри, але його вплив на РІ може бути слабким або варіабельним, що узгоджується з нашими спостереження про підвищення індексу нальоту при покращенні інших параметрів [320]. EGCg (зелений чай) у деяких дослідженнях не показав значного впливу на РІ порівняно з контролем, попри позитивний вплив на інші клінічні параметри [324].

Обидва агенти можуть впливати на бактеріальний біо-фільм і запальні процеси, але ефективність без щоденного догляду за зубами обмежена, що може пояснити спостережуване підвищення індексу нальоту при загальному клінічному покращенні.

Відомі обмеження клінічних показників періодонтального статусу повідомляють що середні значення клінічних параметрів, таких як PPD, CAL та висота кістки, не є адекватними предикторами для сайтів, які можуть повторно інфікуватися та зазнати рецидиву захворювання [209]. PPD або CAL самі по собі вважають недостатнім доказом здоров'я або захворювання ясен. Їх необхідно розглядати в поєднанні з іншими важливими клінічними параметрами, такими як BoP, а також з модифікуючими факторами та факторами ризику. Це підкреслює, як зазначено вище, що найбільш корисним показником захворювання є клінічні ознаки запалення, і що дані анамнезу про захворювання (підвищення PPD, рецесія та CAL, втрата кісткової тканини) можуть бути менш доречними в контексті здоров'я періодонта на редукованому періодонті [325, цитується по 198]. Тому важливість набувають додаткові біологічні параметри патогенезу ПД такі як рівні цитокінів.

Далі ми вивчали взаємозв'язки про- та антизапальних цитокінів з мікроРНК та з клінікою, хоча інтерпретація останніх кореляцій мала обмеження.

Раніше продемонстровані пряма й опосередкована залученість міРНК до каскадів, пов'язаних з експресією цитокінів таких як IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , TGF- β [43, 60]. У свою чергу, IL-1 β , IL-6, IL-10, TGF- β , які при ПД вивчаються досить давно, можуть індукувати та впливати на зміни експресії міРНК [43, 326]. А також зарекомендували себе як досить точні показники рівнів локального запалення при ПД [143].

Для роботи ми обрали, у якості вторинних критеріїв, зміни рівнів представників добре вивчених при ПД про- та антизапальних цитокінів IL-1 β , IL-6, IL-10 та TGF- β в тканині ясен, однак достовірних кореляційних взаємозв'язків між цитокінами та міРНК при ПД не вдалось вловити в цьому дослідженні, хоча IL-1 β зворотно корелював з TGF- β ($p = 0,002$, $r = -0,43$) (рис. 3.11). Взаємовідносини

між цими цитокінами повідомляли і інші автори, навіть припускаючи що співвідношення IL-1 β /TGF- β 1 у тканинах ясен може слугувати потенційним предиктором прогресування ПД [268].

При ПД PPD>6 мм позитивно корелювали з IL-10, та ВоР з TGF- β , можливо як наслідок подвійного внеску обох цитокінів у прогресування ПД, особливо за рахунок добре відомої ролі в імуномодуляції та гомеостазі періодонтальної тканини [327]. Ширший мета-аналіз що порівнював хворі і здорові тканини ясен і кривікулярну рідину, знайшов підвищені рівні IL1 β та IL10 при ПД, відображаючи що і про- і анти- запальні цитокіни апрегульовані при ПД [269]. Сучасні дані підтверджують що TGF- β є центральним медіатором періодонтального запалення, ремоделювання тканин, і процесів репарації [328]. Разом з цими даними, наші результати підтримують концепцію що ПД – це складне і динамічне запальне середовище, радше, аніж проста про-/антизапальна цитокінова дихотомія.

У цьому дослідженні, на 6й місяць, рівні IL-10 підвищились під впливом EGCg і куркуміну, і корелювали з TGF- β 1, що узгоджується з відомими біологічними ефектами цих флавоноїдів (щоправда на моделі ПД у щурів, де використання мукоадгезивних петчів з EGCg від 3 до 21 днів достовірно підвищувало експресію IL10 у періодонтальних тканинах і знижувало експресію IL6 через 7, 14, та 21 дні, що показано імуногістохімічно [275]. Нещодавні дослідження показали що EGCg може протидіяти TGF β 1–індукованій трансформації різних типів клітин та модулює ключові сигнальні шляхи, включаючи PI3K/Akt/AMPK, TGF β /Smad, Nrf2, NF κ B, та ROS/MAPK, підкреслюючи багатогранний механізм дії [270, 273]. Куркумін також здатен індукувати експресію та продукцію і IL10, посилюючи антизапальний ефекти серед широкого діапазону тканин [276].

У нашому дослідженні, суто періодонтальне лікування також індукувало скромне підвищення рівнів IL-10. Ця знахідка клінічно релевантна, оскільки підвищена експресія IL-10 асоційована з періодонтальним здоров'ям, а при ПД значно знижена [26, 239].

Кореляція між кровоточивістю при пробі і рівнями ІЛ-6 після курсу EGCG узгоджується з відомою прозапальною роллю ІЛ-6 при ПД, в свою чергу, ІЛ-6 може знижуватись під впливом EGCG [275].

У нашому дослідженні, рівні TGF β знижувались під впливом EGCG або куркуміну. Ця знахідка узгоджується з іншими дослідженнями, які показали що TGF- β слугує динамічним біомаркером активності ПД і відповіді на лікування у кrevікулярній рідині, слині, сироватці і тканині [328]. Як згадано вище, EGCG може протидіяти TGF β 1-індукованій клітинній трансформації у різних типах клітин. Подібно до цього, куркумін, як показано, пригнічує фенітоїн-індукований надмірний ріст ясен, опосередкований активацією TGF β 1 у фібробластах ясен людини, підкреслюючи здатність модулювати TGF β 1-залежні шляхи в періодонтальних тканинах [271]. Ці дані також пояснюють чому напрямок змін TGF- β під впливом EGCG або куркуміну був сприятливим. У протилежність, у нашому дослідженні, суто періодонтальна терапія показала недостовірне, але підвищення рівнів TGF- β поруч з клінічним покращенням. Виявлена кореляція між пороговими значеннями CAL $\geq 3/\geq 4$ мм і рівнями TGF- β після куркуміну або періодонтального лікування також вкладається в концепцію ролі TGF- β в локальному ремоделюванні тканин [271].

Незважаючи на обґрунтовані біологічно передумови для проведення кореляційного аналізу між міРНК і цитокінами, оскільки досліджували один і той самий біоптат ясен, хоча різні його частини, на 6ти місячний термін кореляційні зв'язки досягали достовірності лише у групі із додатковим курсом EGCG і лише з рівнями TGF- β та: міРНК 155-5p ($r=-0,58$, $p=0,03$); міРНК 29b-3p ($r=-0,80$, $p=0,001$); міРНК 142-3p ($r=-0,65$, $p=0,01$), всі кореляції були негативні, що могло відображати модуляцію запалення або активності ПД. Іншими дослідниками показано, що взаємодія між TGF- β і мікроРНК-155-5p відіграє ключову роль у регуляції запалення, фіброзу та прогресування раку [330, 331]. Взаємодія TGF- β і мікроРНК-29b-3p є ключовим регуляторним механізмом, найбільш вивченим у контексті фіброзу різних органів [332]. miR-29b-3p класифікується як «антифіброміР», так як вона напряду забезпечує експресію генів позаклітинного матриксу, таких як

колагени (I і III типів), ламініни, фібрилін і еластин. Штучне відновлення рівня miR-29b-3p сприймається як перспективна стратегія лікування фіброзних захворювань. Експериментальне введення міметиків (імітаторів) цієї мікроРНК здатне блокувати прогрес фіброзу навіть в умовах високої активності TGF- β [333]. Взаємодія TGF- β та miRNA-142-3p являє собою регуляторну вісь, яка грає критичну роль у патогенезі раку, фіброзу та імунних порушень. Основний механізм полягає в тому, що miR-142-3p безпосередньо пригнічує компоненти сигналіngu TGF- β , діючи як молекулярне «гальмо» цього шляху. Отже, значення цих кореляцій при ПД може стосуватися механізмів запалення, ремоделювання і імунних відповідей, які взаємопов'язані незалежно від місцевого періодонтального лікування. Сукупність негативних кореляцій між TGF- β та miR-155-5p, miR-29b-3p і miR-142-3p після додаткового курсу EGCg відображає координовану молекулярну відповідь, спрямовану на пригнічення запалення, зменшення імунної інфільтрації та активацію репаративних процесів у тканині ясен.

Після додаткового курсу куркуміну або суто періодонтального лікування відсутність кореляцій між IL-1 β , IL-6, IL-10, TGF- β і вибраними miRNA може бути пояснена плеiotропною дією поліфенолів, які модулюють численні сигнальні шляхи (NF- κ B, PI3K/Akt, MAPK) та безпосередньо впливають на експресію miRNA незалежно від окремих цитокінів. Крім того, вирівнювання загального запального стану та участь деяких miRNA в процесах ремоделювання зовсім не обов'язково корелюють з окремими цитокінами. Куркумін і періодонтальне лікування також безпосередньо модулюють експресію miRNA, незалежно від рівнів окремих цитокінів [334]. Поліфеноли одночасно впливають на кілька сигнальних каскадів (NF- κ B, MAPK, JAK/STAT, TGF- β /SMAD, Nrf2), що порушує лінійні кореляційні зв'язки [335, 336]. MiR-27a-3p і miR-138-5p переважно залучені до процесів диференціації клітин, ангіогенезу та ремоделювання тканин, а не до прямої регуляції рівнів цитокінів як згадано вище.

На відміну від стану активного або нещодавно резольованого запалення, коли зберігаються тісні регуляторні зв'язки між цитокінами та miRNA, ад'ювантна поліфенольна терапія: зменшує домінування окремих прозапальних осей

(наприклад, IL-1 β /miR-155 або TGF- β /miR-29); сприяє балансуванню між запальними, імунорегуляторними та репаративними сигналами; переводить регуляцію з режиму «жорсткої залежності» у гомеостатичний багатофакторний стан, де експресія miRNA більше не визначається рівнем одного цитокіну. Таким чином, декуплінг цитокін–miRNA після, зокрема, куркуміну відображає згасання патологічно активних регуляторних контурів, характерних для хронічного запалення, і формування більш стабільної, контрольованої тканинної відповіді.

Відсутність кореляцій між цитокінами та miRNA після ад'ювантної терапії куркуміном може також розглядатися як позитивний біологічний ефект, що відображає відновлення регуляторного балансу та зниження залежності експресії miRNA від окремих запальних медіаторів. До того ж, відсутність вловимих кореляцій між мiPНК і цитокінами може бути пояснена різноманітністю клітинного складу і рівнів і фаз запалення/ремоделювання у мікрівідділах біоптатів.

Клінічні ознаки покращення під впливом EGCg або куркуміну співпадали з достовірними змінами IL-10 і TGF- β , відображаючи потенційний механістичний зв'язок між додатковим прийомом поліфенолів і імунomodуляцією в яснах. І ця імунomodуляція може привносити до відчутних клінічних покращень.

Узагальнено, експресія miRNA-комплексів визначається типом клітини, її станом та мікрооточенням. Функція miRNA залежить не лише від рівня miRNA, а й від контексту мPНК-мішеней та активності RISC. Експресія та функціональна активність мікроPНК (miRNA)-комплексів у різних групах клітин залежать від багаторівневої регуляції, яка охоплює генетичні, епігенетичні, клітинні та мікрооточуючі чинники. Ключові фактори такі: 1. Тип клітини та її диференціювання: кожен тип клітин має специфічний miRNA-профіль, диференційовані клітини та стовбурові клітини експресують різні набори miRNA, miRNA беруть участь у підтримці клітинної ідентичності 2. Клітинний стрес і мікрооточення: запалення, гіпоксія, окиснювальний стрес; цитокіни (IL-1 β , TNF- α , TGF- β); механічне навантаження, pH, - ці фактори суттєво змінюють miRNA-експресію. 3. Міжклітинна комунікація: miRNA у екзосомах і мікровезикулах;

паракринний та юстакринний вплив. 4. Транскрипційна регуляція: miRNA транскрибуються РНК-полімеразою II; активність промоторів залежить від транскрипційних факторів (NF- κ B, AP-1, p53, SMADs); сигнальні шляхи (TGF- β , MAPK, Wnt) змінюють експресію miRNA. 5. Епігенетичні механізми: метилювання ДНК; модифікації гістонів, хроматинова доступність, - визначають, які miRNA гени активні або пригнічені. 6. Біогенез miRNA - Порушення будь-якого етапу змінює ефективність miRNA. 7. Рівень і доступність мРНК-мішеней: одна і та сама miRNA може діяти по-різному залежно від репертуару мРНК у клітині, конкуренція з ceRNA (lncRNA, circRNA, псевдогени) [10, 337-343].

Морфологічні дослідження, які широко проводились раніше, показали, що домінуючими клітинами у тканинних ясен є фібробласти лімфоцити, епітеліоцити та клітини інфільтрату [344]. Пропорційний склад клітин у біоптатах ясен при хронічному пародонтиті має наступний вигляд: резидентні клітини: фібробласти – $\approx 30\text{--}40\%$ клітин у сполучній тканині у нормі; при пародонтиті їх частка зменшується (до $\approx 20\text{--}25\%$), оскільки значну частину простору займає інфільтрат. Епітеліальні клітини (у бар'єрному шарі) – завжди численні; у базальному шарі збільшується кількість кератиноцитів із проліферативними маркерами. Ендотеліальні клітини, перицити, мастоцити, резидентні макрофаги, клітини Лангерганса – невеликий відсоток ($<5\%$ кожен). Запальний інфільтрат (варіює від 20 до 60% клітин у товщі ясен залежно від стадії): Т-лімфоцити – 40–60% інфільтрату (переважно CD4⁺ Th1/Th17, менше CD8⁺). В-лімфоцити та плазматичні клітини – 20–40% (у тяжкому пародонтиті можуть переважати). Нейтрофіли – 5–15% (особливо у кишени та епітелії прикріплення). Моноцити/макрофаги – 5–10%. Мастоцити – $\approx 2\text{--}5\%$, але відіграють диспропорційно велику роль у судинних змінах [345,346].

Отже, у повнотовщинній біопсії ясен при пародонтиті виділяють два шари клітинності: Резидентні клітини (фібробласти, епітеліоцити, ендотеліальні клітини, перицити, мастоцити, резидентні макрофаги, ДК/клітини Лангерганса). Запальний інфільтрат (Т- і В-лімфоцити, плазматичні клітини, нейтрофіли, рекрутовані моноцити/макрофаги). Переважають: фібробласти + Т-лімфоцити, але з вираженим

«другим шаром» - інфільтратом із плазмоцитів, нейтрофілів та АПК. Це значно ускладнює аналіз релевантності джерел експресії міРНК, натомість, в цій роботі визначено сумарну експресію біоптатів побіля 2-3 зубів.

Обмеження дослідження. Отже, одним з обмежень цього дослідження було те, що клітинний склад біопсії не оцінювався в цьому дослідженні, але різні типи клітин можуть виробляти різні рівні цитокінів. Методики із субстратом біоптатів тканин ясен не надають відповіді на запитання внеску конкретних клітин в експресію міРНК чи цитокіну, як і про відмінності у рівнях експресії від сайту до сайту, чи від мікропростору до мікропростору.

Відбір біопсій і клінічні показники не завжди корелювали, оскільки клінічні пропорції включали всі обстежені сайти навколо кожного зуба, а рівні експресії як міРНК, так і цитокінів відносились лише до 1-3 зубів. Це також обмежувало інтерпретацію біологічної значущості наших результатів внаслідок розбіжності між клінічними вимірюваннями, які відображають повний підхід до ротової порожнини, та рівнями експресії міРНК чи цитокінів, чи які були виміряні в конкретному місці біопсії.

Ще одним обмеженням є те, що рівні міРНК, як і цитокінів не оцінювалися в усіх ділянках навколо зубів, що могло недооцінити гетерогенність локальних запальних реакцій.

Підсумки. Модуляція про- і анти- запальних цитокінів і клінічні наслідки, встановлені в цьому дослідженні під впливом EGCg та куркуміну, є складовою концепції ролі NF-κB при метаболічних порушеннях і системному запаленні, розробки якої очолює Kaidashev [270, 347, 348].

Комбінована оцінка для кожного дослідженого режиму лікування (або групи) проведена в цій роботі, включає: клінічні параметри (PPD, CAL, BOP тощо), комплекс міRNA та профіль (IL-1β, IL-6, IL-10, TGF-β), і є мультимодальним фенотипово-молекулярним показником, який відображає: рівень запалення, тяжкість захворювання, динаміку відповіді на терапію. Він є прогностичний, бо

відрізняє, у якій ад'ювантної терапії (EGCg чи куркумін) буде краща молекулярно-клінічна відповідь; та моніторинговий, бо використовується серійно для контролю динаміки запалення. Його прогностичні дані також можуть служити для персоналізованого у майбутньому вибору терапевтичних підходів.

Враховуючи сигнальні шляхи, до регуляції яких залучені міРНК вивченого комплексу, їх рівні експресії можуть відображати вплив і локальних і системних процесів, що відбуваються в тканині ясен.

Зміни експресії міРНК при перебігу та після лікування ПД є глибокими молекулярно-генетичними механізмами що пов'язують ПД із загальними системними захворюваннями і онкогенезом.

Модифікація системного запалення додатковими агентами з впливом по пригніченню локальної запальної деструкції періодонту, якими можуть бути зокрема речовини із відомим впливом на різні міРНК на довготривалій основі є обґрунтованою й перспективною [5, 7].

Управління експресією мікроРНК за допомогою підходів посилення або втрати функції дозволяє селективно таргетувати шляхи мікроРНК, що беруть участь у захворюваннях людини, що є перспективною стратегією терапевтичного втручання при ПД.

ВИСНОВКИ

1. Рандомізація пацієнтів на контрольну та 2 основні клінічні групи дозволила отримати врівноважені групи за основними клініко-демографічними характеристиками, зменшити ризик систематичних відмінностей між ними та підвищити обґрунтованість отриманих результатів. Саме результати досліджень, що отримані між врівноваженими групами, мають найважливіше значення для підтвердження ефекту лікування чи втручання.
2. При пародонтиті, в тканині ясен уражених ділянок, рівні експресії досліджених miR: 138-5p, 155-5p, 29b-3p, 142-3p, 27a-3p, мають високу варіабельність, непараметричний розподіл з правобічною асиметрією з меншістю високих значень, з найширшим діапазоном значень для miR 138-5p, де 80 перцентилів лежать в діапазоні {0,001–0,987} відносних одиниць.

3. Достовірний взаємозв'язок встановлено між miR: 138-5p, 155-5p, 29b-3p ($p < 0,0001$); між miR 29b-3p і глибокими ділянками ≥ 6 мм ($p = 0,04$); негативний між IL-1 β і IL-10 ($p = 0,045$); між IL-1 β і TGF- β ($p = 0,002$). IL-10 корелював з пропорцією глибоких ділянок ($p = 0,03$), а TGF- β з BoP ($p = 0,02$). Це свідчить про взаємозв'язки у miR –цитокіновій осі регуляції запальної відповіді й ремоделювання при природному перебігу пародонтиту.
4. Зміни експресії miR при ПД є глибокими молекулярно-генетичними механізмами що можуть пов'язувати ПД із загальними системними захворюваннями.
5. Після періодонтального лікування на 3й місяць достовірно підвищувались рівні miR 155-5p та 27a-3p (хоча, індивідуальні значення miR часто мали різнонаправлені напрямки змін), це відповідало зменшенню PPD, CAL, та 27% (в середньому) закриття кишень, зниженню індексу нальоту, покращенню орального здоров'я, згідно анкети OHIP-14. На 6й місяць ще зменшилась кількість глибоких PPD на 11% порівняно з 3м місяцем ($p = 0,0003$; AP 0,11; 95% ДІ 0,05 – 0,17) та ще покращились аспекти орального здоров'я. Встановлені позитивні кореляції між CAL $\geq 3/\geq 4$ мм і TGF- β , між PPD ≥ 6 мм і IL-6, останній був достовірно знижений на 6й місяць спостереження, порівняно з вихідними даними. Що в цілому відповідало відомим ефектам стандартної терапії, а у довшій термін відображало вплив цитокінів у балансуванні ремоделювання/запальна деструкція.
6. Експресія miR 138-5p, 155-5p, 142-3p та 27a-3p під впливом додаткового EGCg або куркуміну після лікування відрізнялася від лише періодонтального лікування. Це означає що обрані препарати впливають на експресію міРНК в тканинах ясен пацієнтів з ПД.
7. Додаткові клінічні переваги від прийому EGCg встановлені такі: зниження PPD, BoP, підвищення відсотку закриття кишень на 3й і 6й місяці – 59 та 62%. Це супроводжувалось відносним підвищенням miR138-5p, 155-5p, 142-3p та 27a-3p порівняно з куркуміном, але відрізнялись не достовірно від обов'язкового лікування, окрім miR 27a-3p.

8. Клінічні переваги від прийому EGCg супроводжувались зниженням TGF- β , підвищенням ІЛ-10, порівняно з контролем; кореляціями між CAL $\geq 3/\geq 4$ мм і TGF- β ($p=0,03$), та між ВоР і ІЛ-6 ($p=0,02$). А також між цитокінами і мікроРНК: TGF- β та міРНК 155-5p ($r=-0,58$, $p=0,03$); міРНК 29b-3p ($r=-0,80$, $p=0,001$); міРНК 142-3p ($r=-0,65$, $p=0,01$). Що може свідчити про модулюючий вплив терапії на молекулярний рівень балансу між запаленням і репарацією.
9. Додаткові клінічні переваги від прийому куркуміну встановлені такі: зниженням ВоР, покращення співвідношення порогових значень CAL $\geq 3/\geq 4$ мм, краще закриття кишень – 38% та 47% (на 3й і 6й міс. відповідно), порівняно з періодонтальним лікуванням. Це супроводжувались зниженими рівнями експресії miR 155-5p та 27a-3p, порівняно з контролем, та miR 138-5p, 142-3p – порівняно з EGCg, а, на 6й міс. підвищенням miR 27a-3p, порівняно з контролем. Напрямки змін miR відповідали пригніченню NF- κ B, зменшенню імунної активації та тканинного ушкодження, пригнічення гальмування остеобластичної активності, стабілізації ремоделювання.
10. Клінічні переваги від прийому куркуміну відповідали зниженню ІЛ-6, підвищенню ІЛ-10, порівняно з контролем; кореляції між TGF- β та ІЛ-10. Сукупність змін свідчить про мікроРНК-опосередковану перебудову цитокинових осей і формування резолютивного фенотипу відповіді. Цитокинова перебудова відповідала формуванню імунорегуляторного мікрооточення.
11. Попри підвищення індексу нальоту після курсу EGCg або куркуміну, інші клінічні показники залишались кращими, що свідчить, що тканини стали достовірно менше відповідати запаленням на біоплівку.
12. Зміни клінічних параметрів після EGCg або куркуміну супроводжувались достовірним покращенням функціональних та психосоціальних аспектів орального здоров'я, що розширює уявлення про клінічну ефективність застосованих лікувальних підходів, згідно анкетування ОНІР-14, з приблизно однаковим розміром і тривалістю 3 міс., що перебільшувало ефект від періодонтального лікування.

ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

1. Клініко-молекулярні зв'язки, встановлені в роботі, є комбінованою оцінкою для кожного дослідженого режиму лікування, включали клінічні параметри, профілі miRNA і цитокінів, і є мультимодальним показником, який відображає рівень запалення, тяжкість захворювання, динаміку відповіді на терапію. Він є прогностичний, бо відрізняє, у якій ад'ювантної терапії буде краща молекулярно-клінічна відповідь; та моніторинговий, бо використовується послідовно для динаміки. Його прогностичні дані також можуть служити для персоналізованого у майбутньому вибору терапевтичних підходів.
2. Додаткові курси EGCg (Green Tea Extract EGCg, Now Foods, США 400 мг) або куркуміну (Turmeric Curcumin 1000 mg with Bioperine, Puritan's Pride, США) при лікуванні ПД надають клінічні переваги, порівняно з суто періодонтальним

лікуванню, і можуть бути рекомендовані як третя лінія вибору додаткового медикаментозного лікування.

3. Прогностично, у додаткового курсу терапії куркуміном протягом 60 днів буде краща молекулярно-клінічна відповідь до 6 місяців.
4. У додаткового курсу терапії EGCg протягом 60 днів очікується покращена клінічна відповідь протягом до 3 міс.
5. За допомогою визначення експресії miR138-5p, 155-5p, 142-3p та 27a-3p у тканині ясен можливо проводити порівняльний моніторинг, приймаючи за результат покращення – зниження вихідних рівнів в динаміці.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Hajishengallis G, Chavakis T, Lambris JD. Current understanding of periodontal disease pathogenesis and targets for host-modulation therapy. *Periodontol* 2000. 2020 Oct;84(1):14-34. doi: 10.1111/prd.12331.
2. Periodontal Health. Causes, consequences, diagnosis, therapy and prevention of periodontitis [Internet]. Periodontal Health Foundation; [cited 2023 Dec 3]. Available from: <https://www.periodontal-health.com>
3. Hashim NT, Babiker R, Chaitanya NCSK, Mohammed R, Priya SP, Padmanabhan V, et al. New Insights in Natural Bioactive Compounds for Periodontal Disease: Advanced Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential. *Molecules*. 2025 Feb 10;30(4):807. doi: 10.3390/molecules30040807.
4. Ari G, Cherukuri S, Namasivayam A. Epigenetics and Periodontitis: A Contemporary Review. *J Clin Diagn Res*. 2016 Nov;10(11):ZE07-ZE09. doi: 10.7860/JCDR/2016/21025.8864.
5. Cione E, La Torre C, Cannataro R, Caroleo MC, Plastina P, Gallelli L. Quercetin, Epigallocatechin Gallate, Curcumin, and Resveratrol: From Dietary Sources to Human MicroRNA Modulation. *Molecules*. 2020; 25(1):63. <https://doi.org/10.3390/molecules25010063>.

6. Laky M, Arslan M, Zhu X, Rausch-Fan X, Moritz A, Sculean A, et al. Quercetin in the Prevention of Induced Periodontal Disease in Animal Models: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2024 Mar 4;16(5):735. doi: 10.3390/nu16050735.
7. Inchingolo AD, Inchingolo AM, Malcangi G, Avantario P, Azzollini D, Buongiorno S, et al. Effects of Resveratrol, Curcumin and Quercetin Supplementation on Bone Metabolism-A Systematic Review. *Nutrients*. 2022 Aug 26;14(17):3519. doi: 10.3390/nu14173519.
8. Рожко М., Павлишин МВ, Грибик АІ. Вплив кверцетину та Хлоргексидину-Дента на зміни у тканинах пародонта у дітей, які проживають в екологічно забруднених регіонах Прикарпаття. *Art of Medicine*. 2021;20(4):72-75. doi: 10.21802/artm.2021.4.20.72.
9. Невкалюк НО. Клінічна ефективність застосування фітопрепарату «Ресверазин» в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту. *Вісник наукових досліджень*. 2018 Січ; (4). <https://doi.org/10.11603/2415-8798.2017.4.8321>.
10. Suzuki S, Yamada S. Epigenetics in susceptibility, progression, and diagnosis of periodontitis. *Jpn Dent Sci Rev*. 2022;58:183-192. doi: 10.1016/j.jdsr.2022.06.001.
11. Українська академія пародонтології. Інформація про Українську академію пародонтології [Internet]. Українська академія пародонтології; [cited 2024 Oct 9]. Available from: <https://uaperio.org/about/>
12. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*. 2018 Jun;45 Suppl 20:S1-S8. doi: 10.1111/jcpe.12935.
13. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018 Jun;89 Suppl 1:S173-S182. doi: 10.1002/JPER.17-0721.

14. Socransky's different microbial complexes. Adapted from Mohanty, R., Asopa, S.J., Joseph, M.D., et al. Red complex: Polymicrobial conglomerate in oral flora: A review. *J Family Med Prim Care*. 2019; 8(11): 3480-3486. Published 2019 Nov 15. doi:10.4103/jfmpe.jfmpe_759_19.
15. Pathology of periodontal disease in a susceptible host using the polymicrobial synergy and dysbiosis model. Adapted from Khan SA, Kong EF, Meiller TF, Jabra-Rizk MA. Periodontal Diseases: Bug Induced, Host Promoted. *PLoS Pathog*. 2015; 11(7): e1004952. Published 2015 Jul 30. doi:10.1371/journal.ppat.1004952.
16. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current Concepts in the Management of Periodontitis. *Int Dent J*. 2021 Dec;71(6):462-476. doi: 10.1111/idj.12630.
17. Cheng R, Wu Z, Li M. et al. Interleukin-1 β is a potential therapeutic target for periodontitis: a narrative review. *Int J Oral Sci*. 2020; 12(2). <https://doi.org/10.1038/s41368-019-0068-8>.
18. Silva N, Abusleme L, Bravo D, Dutzan N, Garcia-Sesnich J, Vernal R, et al. Host response mechanisms in periodontal diseases. *J Appl Oral Sci*. 2015 May-Jun;23(3):329-55. doi: 10.1590/1678-775720140259.
19. Martínez-García M, Hernández-Lemus E. Periodontal Inflammation and Systemic Diseases: An Overview. *Front Physiol*. 2021 Oct 27;12:709438. doi: 10.3389/fphys.2021.709438.
20. Fatima T, Khurshid Z, Rehman A, Imran E, Srivastava KC, Shrivastava D. Gingival Crevicular Fluid (GCF): A Diagnostic Tool for the Detection of Periodontal Health and Diseases. *Molecules*. 2021 Feb 24;26(5):1208. doi: 10.3390/molecules26051208.
21. Brodzikowska A, Górski B, Bogusławska-Kapała A. Association between IL-1 Gene Polymorphisms and Stage III Grade B Periodontitis in Polish Population. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Nov 9;19(22):14687. doi: 10.3390/ijerph192214687.
22. Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, Souza AP, Brito RB, Line SR. Investigation of an IL-2 polymorphism in patients with different levels of chronic periodontitis.

- J Clin Periodontol. 2002 Jul;29(7):587-91. doi: 10.1034/j.1600-051x.2002.290701.x.
23. Duarte PM, da Rocha M, Sampaio E, Mestnik MJ, Feres M, Figueiredo LC, et al. Serum levels of cytokines in subjects with generalized chronic and aggressive periodontitis before and after non-surgical periodontal therapy: a pilot study. J Periodontol. 2010 Jul;81(7):1056-63. doi: 10.1902/jop.2010.090732.
 24. Wang RP, Huang J, Chan K W Y, Leung WK, Goto T, Ho YS, Chang RC. IL-1 β and TNF- α play an important role in modulating the risk of periodontitis and Alzheimer's disease. J Neuroinflammation. 2023 Mar 13;20(1):71. doi: 10.1186/s12974-023-02747-4.
 25. Mazurek-Mochol M, Bonsmann T, Mochol M, Poniewierska-Baran A, Pawlik A. The Role of Interleukin 6 in Periodontitis and Its Complications. Int J Mol Sci. 2024 Feb 10;25(4):2146. doi: 10.3390/ijms25042146.
 26. Zhang Q, Chen B, Yan F, Guo J, Zhu X, Ma S, Yang W. Interleukin-10 inhibits bone resorption: a potential therapeutic strategy in periodontitis and other bone loss diseases. Biomed Res Int. 2014;2014:284836. doi: 10.1155/2014/284836.
 27. Liu Y, Yang J, Sun W. Upregulation of IL-10 expression inhibits the proliferation of human periodontal ligament stem cells. Braz Oral Res. 2020 Mar 27;34:e030. doi: 10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0030.
 28. Neurath N, Kesting M. Cytokines in gingivitis and periodontitis: from pathogenesis to therapeutic targets. Front Immunol. 2024 Aug 26;15:1435054. doi: 10.3389/fimmu.2024.1435054.
 29. Matarese G, Isola G, Anastasi GP, Favalaro A, Milardi D, Vermiglio G, et al. Immunohistochemical analysis of TGF- β 1 and VEGF in gingival and periodontal tissues: a role of these biomarkers in the pathogenesis of scleroderma and periodontal disease. Int J Mol Med. 2012 Sep;30(3):502-8. doi: 10.3892/ijmm.2012.1024.
 30. Lee J, Chang DS, Kim J, Hwang YS. Alpha-Defensin 1: An Emerging Periodontitis Biomarker. Diagnostics (Basel). 2023 Jun 22;13(13):2143. doi: 10.3390/diagnostics13132143.

31. Wei L, Liu M, Xiong H. Role of Calprotectin as a Biomarker in Periodontal Disease. *Mediators Inflamm.* 2019 Aug 21;2019:3515026. doi: 10.1155/2019/3515026.
32. Betsy J, Ahmed JM, Mohasin AK, Mohammed A, Nabeeh A A. Diagnostic accuracy of salivary biomarkers of bone turnover in identifying patients with periodontitis in a Saudi Arabian population. *J Dent Sci.* 2019 Sep;14(3):269-276. doi: 10.1016/j.jds.2019.03.002.
33. Loos BG, Needleman I. Endpoints of active periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 2020;47(S22):61-71. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13253>.
34. Stark KL, Xu B, Bagchi A, Lai WS, Liu H, Hsu R, et al. Altered brain microRNA biogenesis contributes to phenotypic deficits in a 22q11-deletion mouse model. *Nat Genet.* 2008;40(6):751-60. doi: 10.1038/ng.138.
35. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *BMJ.* 2009;339:b2700. doi: 10.1136/bmj.b2700%JBMJ.
36. Uttamani JR, Naqvi AR, Estepa AMV, Kulkarni V, Brambila MF, Martínez G, et al. Rivas-Tumanyan S, Nares S. Downregulation of miRNA-26 in chronic periodontitis interferes with innate immune responses and cell migration by targeting phospholipase C beta 1. *J Clin Periodontol.* 2023; 50(1): 102-113. doi: 10.1111/jcpe.13715.
37. Yoneda T, Tomofuji T, Ekuni D, Azuma T, Maruyama T, Fujimori K, et al. Serum microRNAs and chronic periodontitis: A case-control study. *Arch Oral Biol.* 2019; 101: 57-63. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.03.009.
38. Fujimori K, Yoneda T, Tomofuji T, Ekuni D, Azuma T, Maruyama T, et al. Detection of Salivary miRNAs Reflecting Chronic Periodontitis: A Pilot Study. *Molecules.* 2019; 24(6): 1034. doi: 10.3390/molecules24061034.
39. Fujimori K, Yoneda T, Tomofuji T, Ekuni D, Azuma T, Maruyama T, et al. Detection of Salivary miRNAs That Predict Chronic Periodontitis Progression: A

- Cohort Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18(15): 8010. doi: 10.3390/ijerph18158010.
40. Yu M, Chi C. lncRNA FGD5-AS1 and miR-130a Can Be Used for Prognosis Analysis of Patients with Chronic Periodontitis. *Biomed Res Int*. 2021; 2021: 8544914. doi: 10.1155/2021/8544914.
 41. Huang P, Jia L. MicroRNA-28-5p as a potential diagnostic biomarker for chronic periodontitis and its role in cell proliferation and inflammatory response. *J Dent Sci*. 2022; 17(4): 1501-1509. doi: 10.1016/j.jds.2022.04.031.
 42. Zhu J, Zhong Z. The expression and clinical significance of miR-30b-3p and miR-125b-1-3p in patients with periodontitis. *BMC Oral Health*. 2022 Aug 5;22(1):325. doi: 10.1186/s12903-022-02360-6.
 43. Mogharehabed A, Yaghini J, Aminzadeh A, Rahaiee M. Comparative evaluation of microRNA-155 expression level and its correlation with tumor necrotizing factor α and interleukin 6 in patients with chronic periodontitis. *Dent Res J (Isfahan)*. 2022 Apr 27;19:39. PMID: 35669607; PMCID: PMC9164665.
 44. Nik Mohamed Kamal NNS, Awang RAR, Mohamad S, Shahidan WNS. Plasma- and Saliva Exosome Profile Reveals a Distinct MicroRNA Signature in Chronic Periodontitis. *Front Physiol*. 2020 Nov 30;11:587381. doi: 10.3389/fphys.2020.587381.
 45. Yu SL. Diagnostic potential of miR-200 family members in gingival crevicular fluid for chronic periodontitis: correlation with clinical parameters and therapeutic implications. *BMC Oral Health*. 2023 Jul 31;23(1):532. doi: 10.1186/s12903-023-03174-w.
 46. Du Y, Qi YS, Chen H, Shen G. The expression and clinical significance of miR-1226 in patients with periodontitis. *BMC Oral Health*. 2021 Sep 30;21(1):487. doi: 10.1186/s12903-021-01855-y.
 47. Kang L, Li N, Wang L. The Expression of miR-23a and miR-146a in the Saliva of Patients with Periodontitis and Its Clinical Significance. *Biomed Res Int*. 2021 Nov 30;2021:5135278. doi: 10.1155/2021/5135278.

48. Yamaguchi A, Tsuruya Y, Igarashi K, Jin Z, Yamazaki-Takai M, Takai H, Nakayama Y, Ogata Y. Changes in the components of salivary exosomes due to initial periodontal therapy. *J Periodontal Implant Sci.* 2023 Oct;53(5):347-361. <https://doi.org/10.5051/jpis.2203700185/>
49. Hsieh PL, Huang CC, Yu CC. Emerging Role of MicroRNA-200 Family in Dentistry. *Noncoding RNA.* 2021 Jun 11;7(2):35. doi: 10.3390/ncrna7020035.
50. Sweat M, Sweat Y, Yu W, Su D, Leonard RJ, Eliason SL, Amendt BA. The miR-200 family is required for ectodermal organ development through the regulation of the epithelial stem cell niche. *Stem Cells.* 2021;39(6):761–75. doi: 10.1002/stem.3342.
51. Wendlandt EB, Graff JW, Gioannini TL, McCaffrey AP, Wilson ME. The role of microRNAs miR-200b and miR-200c in TLR4 signaling and NF-kappaB activation. *Innate Immun.* 2012;18(6):846-55. doi: 10.1177/1753425912443903.
52. Chukkapalli SS, Ambadapadi S, Varkoly K, Jiron J, Aguirre JI, Bhattacharyya I, et al. Impaired innate immune signaling due to combined Toll-like receptor 2 and 4 deficiency affects both periodontitis and atherosclerosis in response to polybacterial infection. *Pathog Dis.* 2018 Nov 1;76(8):fty076. doi: 10.1093/femspd/fty076.
53. Huang B, Chen H, Fan M. Inhibition of TLR4 signaling pathway: molecular treatment strategy of periodontitis-associated atherosclerosis. *Med Hypotheses.* 2008;70(3):614-7. doi: 10.1016/j.mehy.2007.06.015.
54. Шинкевич ВІ, Кайдашев ІІІ. Роль Toll-рецепторів у патогенезі захворювань слизової оболонки порожнини рота. *Проблеми екології та медицини.* 2010;14(3-4):12-6.
55. Van Keuren-Jensen KR, Malenica I, Courtright AL, Ghaffari LT, Starr AP, Metpally RP, Beecroft TA, et al. microRNA changes in liver tissue associated with fibrosis progression in patients with hepatitis C. *Liver Int.* 2016;36(3):334–43. doi: 10.1111/liv.12919.
56. Elazazy O, Amr K, Abd El Fattah A, Abouzaid M. Evaluation of serum and gingival crevicular fluid microRNA-223, microRNA-203 and microRNA-200b

- expression in chronic periodontitis patients with and without diabetes type 2. *Arch Oral Biol.* 2021;121:104949. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104949.
- 57.Ogata Y, Matsui S, Kato A, Zhou L, Nakayama Y, Takai H. MicroRNA expression in inflamed and noninflamed gingival tissues from japanese patients. *J Oral Sci.* 2014;56(4):253–60. doi: 10.2334/josnurd.56.253.
 - 58.Kalea AZ, Hoteit R, Suvan J, Lovering RC, Palmen J, Cooper JA, et al. Upregulation of gingival tissue miR-200b in obese periodontitis subjects. *J Dent Res.* 2015;94(3 Suppl):59S–69S. doi: 10.1177/0022034514568197.
 - 59.Isola G, Santonocito S, Distefano A, Polizzi A, Vaccaro M, Raciti G, et al. Impact of periodontitis on gingival crevicular fluid miRNAs profiles associated with cardiovascular disease risk. *J Periodontal Res.* 2023;58(1):165–74. doi: 10.1111/jre.13078.
 - 60.Matsui S, Zhou L, Nakayama Y, Mezawa M, Kato A, Suzuki N, et al. MiR-200b attenuates IL-6 production through IKKbeta and ZEB1 in human gingival fibroblasts. *Inflamm Res.* 2018;67(11–12):965–73. doi: 10.1007/s00011-018-1192-1.
 - 61.Akkouch A, Zhu M, Romero-Bustillos M, Eliason S, Qian F, Salem AK, et al. MicroRNA-200c attenuates Periodontitis by modulating Proinflammatory and Osteoclastogenic Mediators. *Stem Cells Dev.* 2019;28(15):1026–36. doi: 10.1089/scd.2019.0027.
 - 62.Li S, Song Z, Dong J, Shu R. microRNA-142 is upregulated by tumor necrosis factor-alpha and triggers apoptosis in human gingival epithelial cells by repressing BACH2 expression. *Am J Transl Res.* 2017;9(1):175-183.
 - 63.Xie Z, Chen G, Zhang X, Li D, Huang J, Yang C, et al. Salivary microRNAs as promising biomarkers for detection of esophageal cancer. *PLoS One.* 2013;8:e57502.
 - 64.Geibert LFR, MacRae IJ. Regulation of microRNA function in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019;20(1):21-37. doi: 10.1038/s41580-018-0045-7.
 - 65.He L, Gong H, You S, Zhang C, Zhong C, Li L. miRNA-138-5p suppresses cigarette smoke-induced apoptosis in testicular cells by targeting Caspase-3

- through the Bcl-2 signaling pathway. *J Biochem Mol Toxicol.* 2021 Jul;35(7):e22783. doi: 10.1002/jbt.22783.
66. Tang X, Li X, Zhang D, Han W. Astragaloside-IV alleviates high glucose-induced ferroptosis in retinal pigment epithelial cells by disrupting the expression of miR-138-5p/Sirt1/Nrf2. *Bioengineered.* 2022 Apr;13(4):8240-8254. doi: 10.1080/21655979.2022.2049471.
 67. Xun J, Du L, Gao R, Shen L, Wang D, Kang L, et al. Cancer-derived exosomal miR-138-5p modulates polarization of tumor-associated macrophages through inhibition of KDM6B. *Theranostics.* 2021 May 3;11(14):6847-6859. doi: 10.7150/thno.51864.
 68. Zhang Q, Pan J, Xiong D, Zheng J, McPherson KN, Lee S, et al. Aerosolized miR-138-5p and miR-200c targets PD-L1 for lung cancer prevention. *Front Immunol.* 2023 Jul 13;14:1166951. doi: 10.3389/fimmu.2023.1166951.
 69. Wu Y, Jiang W, Lu Z, Su W, Liu N, Guo F. miR-138-5p targets sirtuin1 to regulate acute lung injury by regulation of the NF- κ B signaling pathway. *Can J Physiol Pharmacol.* 2020 Aug;98(8):522-530. doi: 10.1139/cjpp-2019-0559.
 70. Zhou X, Luan X, Chen Z, Francis M, Gopinathan G, Li W, Lu X, et al. MicroRNA-138 Inhibits Periodontal Progenitor Differentiation under Inflammatory Conditions. *J Dent Res.* 2016 Feb;95(2):230-7. doi: 10.1177/0022034515613043.
 71. Shin B, Hrdlicka HC, Karki S, Fraser B, Lee SK, Delany AM. The miR-29-3p family suppresses inflammatory osteolysis. *J Cell Physiol.* 2024 Aug;239(8):e31299. doi: 10.1002/jcp.31299.
 72. Zhi L, Zhao J, Zhao H, Qing Z, Liu H, Ma J. Downregulation of LncRNA OIP5-AS1 Induced by IL-1 β Aggravates Osteoarthritis via Regulating miR-29b-3p/PGRN. *Cartilage.* 2021 Dec;13(2_suppl):1345S-1355S. doi: 10.1177/1947603519900801.
 73. Chen L, Li Q, Wang J, Jin S, Zheng H, Lin J, et al. MiR-29b-3p promotes chondrocyte apoptosis and facilitates the occurrence and development of osteoarthritis by targeting PGRN. *J Cell Mol Med.* 2017 Dec;21(12):3347-3359. doi: 10.1111/jcmm.13237.

74. Baru O, Pop L, Raduly L, Bica C, Mehterov N, Pirlog R, et al. The Evaluation of a 5-miRNA Panel in Patients with Periodontitis Disease. *JDR Clin Trans Res*. 2025 Jan;10(1):34-43. doi: 10.1177/23800844241252395.
75. Kapoor P, Chowdhry A, Bagga DK, Bhargava D, Aishwarya S. MicroRNAs in oral fluids (saliva and gingival crevicular fluid) as biomarkers in orthodontics: systematic review and integrated bioinformatic analysis. *Prog Orthod*. 2021 Oct 11;22(1):31. doi: 10.1186/s40510-021-00377-1.
76. Yan L, Liu G, Wu X. The umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomal lncRNA H19 improves osteochondral activity through miR-29b-3p/FoxO3 axis. *Clin Transl Med*. 2021 Jan;11(1):e255. doi: 10.1002/ctm2.255.
77. Horita M, Hsu SN, Raper A, Farquharson C, Stephen LA. miR-29b inhibits TGF- β 1-induced cell proliferation in articular chondrocytes. *Biochem Biophys Res*. 2022 Jan 24;29:101216. doi: 10.1016/j.bbrep.2022.101216.
78. Yang J, Gao J, Gao F, Zhao Y, Deng B, Mu X, Xu L. Extracellular vesicles-encapsulated microRNA-29b-3p from bone marrow-derived mesenchymal stem cells promotes fracture healing via modulation of the PTEN/PI3K/AKT axis. *Exp Cell Res*. 2022 Mar 15;412(2):113026. doi: 10.1016/j.yexcr.2022.113026.
79. Liu J, You Y, Sun Z, Zhang L, Li X, Dai Z, et al. WTAP-Mediated m6A RNA Methylation Regulates the Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells via the miR-29b-3p/HDAC4 Axis. *Stem Cells Transl Med*. 2023 May 15;12(5):307-321. doi: 10.1093/stcltm/szad020.
80. Akpınar K, Aslan D, Fenkçi SM, Caner V. miR-21-3p and miR-192-5p in patients with type 2 diabetic nephropathy. *Diagnosis (Berl)*. 2022 Aug 18;9(4):499-507. doi: 10.1515/dx-2022-0036.
81. Li Z, Yi N, Chen R, Meng Y, Wang Y, Liu H, et al. miR-29b-3p protects cardiomyocytes against endotoxin-induced apoptosis and inflammatory response through targeting FOXO3A. *Cell Signal*. 2020 Oct;74:109716. doi: 10.1016/j.cellsig.2020.109716.

82. Yang Q, Wu F, Mi Y, Wang F, Cai K, Yang X, et al. Aberrant expression of miR-29b-3p influences heart development and cardiomyocyte proliferation by targeting NOTCH2. *Cell Prolif.* 2020 Mar;53(3):e12764. doi: 10.1111/cpr.12764.
83. Sun Z, Ren M, Niu J, Tang G, Li Y, Kong F, Song X. miR-29b-3p targetedly regulates VEGF to inhibit tumor progression and cisplatin resistance through Nrf2/HO-1 signaling pathway in non-small cell lung cancer. *Environ Toxicol.* 2024 Jul;39(7):3956-3966. doi: 10.1002/tox.24253.
84. Tong Y, Zhou Z, Tang J, Feng Q. MiR-29b-3p Inhibits the Inflammation Injury in Human Umbilical Vein Endothelial Cells by Regulating SEC23A. *Biochem Genet.* 2022 Dec;60(6):2000-2014. doi: 10.1007/s10528-022-10194-8.
85. Li C, Wang P, Du J, Chen J, Liu W, Ye K. LncRNA RAD51-AS1/miR-29b/c-3p/NDRG2 crosstalk repressed proliferation, invasion and glycolysis of colorectal cancer. *IUBMB Life.* 2021 Jan;73(1):286-298. doi: 10.1002/iub.2427.
86. Wang L, Mu N, Qu N. Methylation of the miR29b3p promoter contributes to angiogenesis, invasion, and migration in pancreatic cancer. *Oncol Rep.* 2021 Jan;45(1):65-72. doi: 10.3892/or.2020.7832.
87. Tan Y, Sun D, Chen J, Li R, Wang S. Ginsenoside Rb3 alleviates smoke-induced lung injury via the H19/miR-29b-3p/HGMB1/TLR4 signalling pathway. *J Cell Mol Med.* 2021 Mar;25(5):2725-2729. doi: 10.1111/jcmm.15844.
88. Ai K, Yi L, Wang Y, Li Y. CircRNA_33702 Promotes Renal Fibrosis by Targeting the miR-29b-3p/WNT1-Inducible Signaling Pathway Protein 1 Pathway. *J Pharmacol Exp Ther.* 2023 Jan;384(1):61-71. doi: 10.1124/jpet.122.001280.
89. Guo F, Tang C, Huang B, Gu L, Zhou J, Mo Z, et al. LncRNA H19 Drives Proliferation of Cardiac Fibroblasts and Collagen Production via Suppression of the miR-29a-3p/miR-29b-3p-VEGFA/TGF- β Axis. *Mol Cells.* 2022 Mar 31;45(3):122-133. doi: 10.14348/molcells.2021.0066.
90. Xue Y, Fan X, Yang R, Jiao Y, Li Y. miR-29b-3p inhibits post-infarct cardiac fibrosis by targeting FOS. *Biosci Rep.* 2020 Sep 30;40(9):BSR20201227. doi: 10.1042/BSR20201227.

91. Yan T, Huang L, Yan Y, Zhong Y, Xie H, Wang X. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosome miR-29b-3p alleviates UV irradiation-induced photoaging in skin fibroblast. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2023 May;39(3):235-245. doi: 10.1111/phpp.12827.
92. The Human Protein Atlas. The open access resource for human proteins [Internet]. Stockholm: The Human Protein Atlas; 2008 Jul [cited 2025 Mar 8]. Available from: <https://www.proteinatlas.org/>
93. Xie H, Cao L, Ye L, Li Q, Zhang Y, Zhang H, Yang H. microRNA-29b-3p/sirtuin-1/peroxisome proliferator-activated receptor γ suppress osteogenic differentiation. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2023 Feb;59(2):109-120. doi: 10.1007/s11626-023-00753-7.
94. Chen W.J., Yin K., Zhao G.J., Fu Y.C., Tang C.K. The magic and mystery of microRNA-27 in atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2012;222:314–323. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.01.020.
95. Choe N, Kwon DH, Ryu J, Shin S, Cho HJ, Joung H, et al. miR-27a-3p Targets ATF3 to Reduce Calcium Deposition in Vascular Smooth Muscle Cells. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2020 Sep 28;22:627-639. doi: 10.1016/j.omtn.2020.09.030.
96. Wu H, Pula T, Tews D, Amri EZ, Debatin KM, Wabitsch M, et al. microRNA-27a-3p but Not -5p Is a Crucial Mediator of Human Adipogenesis. *Cells*. 2021 Nov 17;10(11):3205. doi: 10.3390/cells10113205.
97. Xu Y, Li D, Zhu Z, Li L, Jin Y, Ma C, Zhang W. miR27a3p negatively regulates osteogenic differentiation of MC3T3E1 preosteoblasts by targeting osterix. *Mol Med Rep*. 2020 Sep;22(3):1717-1726. doi: 10.3892/mmr.2020.11246
98. Li M, Gao Z, Wang S, Zhao Y, Xie H. miR27a3p upregulation by p65 facilitates cervical tumorigenesis by increasing TAB3 expression and is involved in the positive feedback loop of NF κ B signaling. *Oncol Rep*. 2023 Jul;50(1):132. doi: 10.3892/or.2023.8569.
99. Yang Y, Yang Z, Zhang R, Jia C, Mao R, Mahati S, et al. MiR-27a-3p enhances the cisplatin sensitivity in hepatocellular carcinoma cells through inhibiting PI3K/Akt

- pathway. *Biosci Rep.* 2021 Dec 22;41(12):BSR20192007. doi: 10.1042/BSR20192007.
100. Lei J, Guo S, Li K, Tian J, Zong B, Ai T, et al. Lysophosphatidic acid receptor 6 regulated by miR-27a-3p attenuates tumor proliferation in breast cancer. *Clin Transl Oncol.* 2022 Mar;24(3):503-516. doi: 10.1007/s12094-021-02704-8.
 101. Liu Y, Liu C, Zhang A, Yin S, Wang T, Wang Y, et al. Down-regulation of long non-coding RNA MEG3 suppresses osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells (PDLSCs) through miR-27a-3p/IGF1 axis in periodontitis. *Aging (Albany NY).* 2019 Aug 9;11(15):5334-5350. doi: 10.18632/aging.102105.
 102. Deng L, Huo PC, Feng MT, Wang RL, Jing R, Luo LJ. miR-27a-5p alleviates periodontal inflammation by targeting phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten. *Mol Oral Microbiol.* 2023 Aug;38(4):309-320. doi: 10.1111/omi.12416.
 103. Guzeldemir-Akcakanat E, Sunnetci-Akkoyunlu D, Balta-Uysal VM, Özer T, Işık EB, Cine N. Differentially expressed miRNAs associated with generalized aggressive periodontitis. *Clin Oral Investig.* 2023 Dec 21;28(1):7. doi: 10.1007/s00784-023-05404-5.
 104. Gonçalves Fernandes J, Morford LA, Harrison PL, Kompotiati T, Huang H, Aukhil I, et al. Dysregulation of genes and microRNAs in localized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2020 Nov;47(11):1317-1325. doi: 10.1111/jcpe.13361.
 105. Yang WW, Li QX, Wang F, Zhang XR, Zhang XL, Wang M, et al. Exosomal miR-155-5p Facilitates Lipopolysaccharide Transport and Foam Cell Formation: A Novel Link Between Periodontitis and Atherosclerosis. *J Periodontal Res.* 2024 Nov 27. doi: 10.1111/jre.13369.
 106. Wang S, Wang Q, Zhao K, Zhang S, Chen Z. Exploration of the shared diagnostic genes and mechanisms between periodontitis and primary Sjögren's syndrome by integrated comprehensive bioinformatics analysis and machine learning. *Int Immunopharmacol.* 2024 Nov 15;141:112899. doi: 10.1016/j.intimp.2024.112899.

107. Li N, Wang Z. Integrative Analysis of Deregulated miRNAs Reveals Candidate Molecular Mechanisms Linking H.pylori Infected Peptic Ulcer Disease with Periodontitis. *Dis Markers*. 2022 Jan 29;2022:1498525. doi: 10.1155/2022/1498525.
108. Jiang H, Kitaura H, Liu L, Mizoguchi I, Liu S. The miR-155-5p inhibits osteoclast differentiation through targeting CXCR2 in orthodontic root resorption. *J Periodontal Res*. 2021 Aug;56(4):761-773. doi: 10.1111/jre.12875
109. Hua L, Zhang X. MALAT1 regulates osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells through mediating miR-155-5p/ETS1 axis. *Tissue Cell*. 2021 Dec;73:101619. doi: 10.1016/j.tice.2021.101619.
110. Zheng Y, Dong C, Yang J, Jin Y, Zheng W, Zhou Q, et al. Exosomal microRNA-155-5p from PDLSCs regulated Th17/Treg balance by targeting sirtuin-1 in chronic periodontitis. *J Cell Physiol*. 2019 Nov;234(11):20662-20674. doi: 10.1002/jcp.28671.
111. Pagotto S, Veronese A, Soranno A, Lanuti P, Di Marco M, Russo MV, et al. Hsa-miR-155-5p drives aneuploidy at early stages of cellular transformation. *Oncotarget*. 2018 Feb 7;9(16):13036-13047. doi: 10.18632/oncotarget.24437.
112. Perri R, Nares S, Zhang S, Barros SP, Offenbacher S. MicroRNA modulation in obesity and periodontitis. *J Dent Res*. 2012 Jan;91(1):33-8. doi: 10.1177/0022034511425045.
113. Aravindraja C, Jeepipalli S, Vekariya KM, Botello-Escalante R, Chan EKL, Kesavalu L. Oral Spirochete *Treponema denticola* Intraoral Infection Reveals Unique miR-133a, miR-486, miR-126-3p, miR-126-5p miRNA Expression Kinetics during Periodontitis. *Int J Mol Sci*. 2023 Jul 28;24(15):12105. doi: 10.3390/ijms241512105.
114. Naqvi AR, Fordham JB, Nares S. miR-24, miR-30b, and miR-142-3p regulate phagocytosis in myeloid inflammatory cells. *J Immunol*. 2015 Feb 15;194(4):1916-27. doi: 10.4049/jimmunol.1401893.
115. Sun Y, Shi J, Luo X, Xu X. microRNA-142-3p regulates osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells via mediating SGK1. *J*

- Stomatol Oral Maxillofac Surg. 2023 Feb;124(1S):101369. doi: 10.1016/j.jormas.2022.101369
116. Fordham JB, Naqvi AR, Nares S. Regulation of miR-24, miR-30b, and miR-142-3p during macrophage and dendritic cell differentiation potentiates innate immunity. *J Leukoc Biol.* 2015 Aug;98(2):195-207. doi: 10.1189/jlb.1A1014-519RR.
 117. Zheng L, Chopra A, Weiner J 3rd, Beule D, Dommisch H, Schaefer AS. miRNAs from Inflamed Gingiva Link Gene Signaling to Increased MET Expression. *J Dent Res.* 2023 Dec;102(13):1488-1497. doi: 10.1177/00220345231197984.
 118. Lv X, Yan J, Jiang J, Zhou X, Lu Y, Jiang H. MicroRNA-27a-3p suppression of peroxisome proliferator-activated receptor- γ contributes to cognitive impairments resulting from sevoflurane treatment. *J Neurochem.* 2017 Nov;143(3):306-319. doi: 10.1111/jnc.14208.
 119. Yuan Z, Luo G, Li X, Chen J, Wu J, Peng Y. PPAR γ inhibits HMGB1 expression through upregulation of miR-142-3p in vitro and in vivo. *Cell Signal.* 2016 Mar;28(3):158-164. doi: 10.1016/j.cellsig.2015.12.013.
 120. Berglundh T, Giannobile WV, Sanz M, Lang NP, editors. *Lindhe's Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 7th ed. Hoboken (NJ): John Wiley & Sons; 2021.
 121. Brookes Z, Teoh L, Cieplik F, Kumar P. Mouthwash Effects on the Oral Microbiome: Are They Good, Bad, or Balanced? *Int Dent J.* 2023 Nov;73 Suppl 2(Suppl 2):S74-S81. doi: 10.1016/j.identj.2023.08.010.
 122. Mahdizade Ari M, Amirmozafari N, Atieh Darbandi, Afifirad R, Asadollahi P, Irajian G. Effectiveness of photodynamic therapy on the treatment of chronic periodontitis: a systematic review during 2008-2023. *Front Chem.* 2024 May 16;12:1384344. doi: 10.3389/fchem.2024.1384344.
 123. Baghani Z, Basir Shabestari S, Karrabi M. Clinical attachment loss in the use of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in Stages II-IV Grade C

- molar-incisor periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Bosn J Basic Med Sci.* 2022 Oct 23;22(6):843-861. doi: 10.17305/bjbms.2022.7157.
124. Zhao T, Song J, Ping Y, Li M. The Application of Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) in the Treatment of Peri-Implantitis. *Comput Math Methods Med.* 2022 May 12;2022:3547398. doi: 10.1155/2022/3547398.
 125. Hammami C, Nasri W. Antibiotics in the Treatment of Periodontitis: A Systematic Review of the Literature. *Int J Dent.* 2021 Nov 8;2021:6846074. doi: 10.1155/2021/6846074. PMID: 34790237; PMCID: PMC8592718.
 126. Liaw A, Miller C, Nimmo A. Comparing the periodontal tissue response to non-surgical scaling and root planing alone, adjunctive azithromycin, or adjunctive amoxicillin plus metronidazole in generalized chronic moderate-to-severe periodontitis: a preliminary randomized controlled trial. *Aust Dent J.* 2019 Jun;64(2):145-152. doi: 10.1111/adj.12674..
 127. Polizzi A, Donzella M, Nicolosi G, Santonocito S, Pesce P, Isola G. Drugs for the Quorum Sensing Inhibition of Oral Biofilm: New Frontiers and Insights in the Treatment of Periodontitis. *Pharmaceutics.* 2022 Dec 7;14(12):2740. doi: 10.3390/pharmaceutics14122740.
 128. Ehmke B., Moter A., Beikler T., Milian E., Flemmig T.F. Adjunctive antimicrobial therapy of periodontitis: Long-term effects on disease progression and oral colonization. *J Periodontol.* 2005;76:749–759. doi: 10.1902/jop.2005.76.5.749.
 129. Kaner D., Christan C., Dietrich T., Bernimoulin J.P., Kleber B.M., Friedmann A. Timing affects the clinical outcome of adjunctive systemic antibiotic therapy for generalized aggressive periodontitis. *J. Periodontol.* 2007;78:1201–1208. doi: 10.1902/jop.2007.060437.
 130. Ribeiro Edel P., Bittencourt S., Zanin I.C., Bovi Ambrosano G.M., Sallum E.A., Nociti F.H., et al. Full-mouth ultrasonic debridement associated with amoxicillin and metronidazole in the treatment of severe chronic periodontitis. *J. Periodontol.* 2009;80:1254–1264. doi: 10.1902/jop.2009.080403.

131. Kalsi R., Vandana K.L., Prakash S. Effect of local drug delivery in chronic periodontitis patients: A meta-analysis. *J. Indian Soc. Periodontol.* 2011;15:304–309. doi: 10.4103/0972-124x.92559.
132. Kherul Anuwar AH, Saub R, Safii SH, Ab-Murat N, Mohd Taib MS, Mamikutty R, Ng CW. Systemic Antibiotics as an Adjunct to Subgingival Debridement: A Network Meta-Analysis. *Antibiotics (Basel)*. 2022 Nov 28;11(12):1716. doi: 10.3390/antibiotics11121716.
133. Gómez-Sandoval JR, Robles-Cervantes JA, Hernández-González SO, Espinel-Bermudez MC, Mariaud-Schmidt R, Martínez-Rodríguez V, et al. Efficacy of clindamycin compared with amoxicillin-metronidazole after a 7-day regimen in the treatment of periodontitis in patients with diabetes: a randomized clinical trial. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2020 Jan;8(1):e000665. doi: 10.1136/bmjdr-2019-000665.
134. Mugri MH. Efficacy of Systemic Amoxicillin-Metronidazole in Periodontitis Patients with Diabetes Mellitus: A Systematic Review of Randomized Clinical Trials. *Medicina (Kaunas)*. 2022 Nov 7;58(11):1605. doi: 10.3390/medicina58111605.
135. Wu SY, Wu CY, Lin LY, Chen YH, Huang HY, Lai YL, Lee SY. Systemic antibiotics adjuvants to scaling and root planing in type 2 diabetic and periodontitis individuals: Systematic review with network meta-analysis. *Jpn Dent Sci Rev*. 2023 Dec;59:167-178. doi: 10.1016/j.jdsr.2023.06.001.
136. Munasur SL, Turawa EB, Chikte UME, Musekiwa A. Mechanical Debridement with Antibiotics in the Treatment of Chronic Periodontitis: Effect on Systemic Biomarkers-A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Aug 3;17(15):5601. doi: 10.3390/ijerph17155601.
137. Cooper L, Stankiewicz N, Sneddon J, Seaton RA, Smith A. Indications for the use of metronidazole in the treatment of non-periodontal dental infections: a systematic review. *JAC Antimicrob Resist*. 2022 Aug 9;4(4):dlac072. doi: 10.1093/jacamr/dlac072.

138. Belibasakis GN, Belstrøm D, Eick S, Gursoy UK, Johansson A, Könönen E. Periodontal microbiology and microbial etiology of periodontal diseases: Historical concepts and contemporary perspectives. *Periodontol 2000*. 2023 Jan 20. doi: 10.1111/prd.12473.
139. Haque MM, Yerex K, Kelekis-Cholakis A, Duan K. Advances in novel therapeutic approaches for periodontal diseases. *BMC Oral Health*. 2022 Nov 15;22(1):492. doi: 10.1186/s12903-022-02530-6.
140. Jones OP, Hoyle PJ. Azithromycin as an adjunct to subgingival professional mechanical plaque removal in the treatment of grade C periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontal Implant Sci*. 2022 Oct;52(5):352-369. doi: 10.5051/jpis.2200340017.
141. Jagannathan N, Acharya A, Yi Farn O, Li KY, Nibali L, Pelekos G. Disease severity, debridement approach and timing of drug modify outcomes of adjunctive azithromycin in non-surgical management of chronic periodontitis: a multivariate meta-analysis. *BMC Oral Health*. 2019 Apr 27;19(1):65. doi: 10.1186/s12903-019-0754-0.
142. Čuk K, Povšič K, Milavec S, Seme K, Gašperšič R. Influence of adjunctive azithromycin on microbiological and clinical outcomes in periodontitis patients: 6-month results of randomized controlled clinical trial. *BMC Oral Health*. 2020 Sep 1;20(1):241. doi: 10.1186/s12903-020-01209-0.
143. Shynkevych VI, Kolomiiets SV, Kaidashev IP. Azithromycin with scaling and root planing versus scaling and root planing alone in the treatment of periodontitis: A randomized controlled trial. *Saudi Dent J*. 2023 Dec;35(8):929-938. doi: 10.1016/j.sdentj.2023.07.016.
144. Bai Y, Bai YL, Lai J, Huang J. [Efficacy of clarithromycin in the adjuvant treatment of chronic periodontitis: a Meta-analysis]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2020 Jun 1;38(3):290-296. Chinese. doi: 10.7518/hxkq.2020.03.011.
145. Kaufmann ME, Lenherr P, Walter C, Wiedemeier DB, Attin T, Schmidlin PR. Systemically administered amoxicillin/ metronidazole versus azithromycin as adjuncts to subgingival instrumentation during non-surgical periodontal therapy. A

- systematic review. *Swiss Dent J*. 2020 Jul 20;130(7-8):572-583. doi: 10.61872/sdj-2020-07-08-01.
146. Morales A, Contador R, Bravo J, Carvajal P, Silva N, Strauss FJ, Gamonal J. Clinical effects of probiotic or azithromycin as an adjunct to scaling and root planning in the treatment of stage III periodontitis: a pilot randomized controlled clinical trial. *BMC Oral Health*. 2021 Jan 7;21(1):12. doi: 10.1186/s12903-020-01276-3.
 147. Khattri S, Kumbargere Nagraj S, Arora A, Eachempati P, Kusum CK, Bhat KG, Johnson TM, Lodi G. Adjunctive systemic antimicrobials for the non-surgical treatment of periodontitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020 Nov 16;11(11):CD012568. doi: 10.1002/14651858.CD012568.pub2.
 148. Cosgarea R, Jepsen S, Heumann C, Batori-Andronesco I, Rosu A, Bora R, et al. Clinical, microbiological, and immunological effects of 3- or 7-day systemic antibiotics adjunctive to subgingival instrumentation in patients with aggressive (Stage III/IV Grade C) periodontitis: A randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2022 Nov;49(11):1106-1120. doi: 10.1111/jcpe.13676..
 149. Yang L, Ge Q, Ye Z, Wang L, Wang L, Mashrah MA, Pathak JL. Sulfonylureas for Treatment of Periodontitis-Diabetes Comorbidity-Related Complications: Killing Two Birds With One Stone. *Front Pharmacol*. 2021 Sep 1;12:728458. doi: 10.3389/fphar.2021.728458.
 150. Tang Z, Fan Q, Jiang Q, Li X, Wang Y, Long H, et al The effect of antibiotics on the periodontal treatment of diabetic patients with periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Front Pharmacol*. 2023 Jan 25;14:1013958. doi: 10.3389/fphar.2023.1013958.
 151. Grusovin MG, Pispero A, Del Fabbro M, Sangiorgi M, Simion M, Stefanini M, Varoni EM. Antibiotics as Adjunctive Therapy in the Non-Surgical Treatment of Peri-Implantitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics (Basel)*. 2022 Dec 7;11(12):1766. doi: 10.3390/antibiotics11121766.

152. Elashiry M, Morandini AC, Cornelius Timothius CJ, Ghaly M, Cutler CW. Selective Antimicrobial Therapies for Periodontitis: Win the "Battle and the War". *Int J Mol Sci*. 2021 Jun 16;22(12):6459. doi: 10.3390/ijms22126459.
153. Rajendran M, Looney S, Singh N, Elashiry M, Meghil MM, El-Awady AR et al. Systemic Antibiotic Therapy Reduces Circulating Inflammatory Dendritic Cells and Treg-Th17 Plasticity in Periodontitis. *J Immunol*. 2019 May 1;202(9):2690-2699. doi: 10.4049/jimmunol.1900046.
154. Machineni L. Effects of biotic and abiotic factors on biofilm growth dynamics and their heterogeneous response to antibiotic challenge. *J Biosci*. 2020;45:25. PMID: 32020907.
155. Golub LM, Lee HM. Periodontal therapeutics: Current host-modulation agents and future directions. *Periodontol 2000*. 2020 Feb;82(1):186-204. doi: 10.1111/prd.12315.
156. Yap KCH, Pulikkotil SJ. Systemic doxycycline as an adjunct to scaling and root planing in diabetic patients with periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health*. 2019 Sep 5;19(1):209. doi: 10.1186/s12903-019-0873-7.
157. Zúñiga-Loor D, Parise-Vasco JM, Montesinos-Guevara C. Mechanical debridement combined with amoxicillin and metronidazole compared with mechanical debridement alone for the treatment of chronic periodontitis: An overview of systematic reviews. *Dent Med Probl*. 2024 May-Jun;61(3):439-446. doi: 10.17219/dmp/158925.
158. Luchian I, Goriuc A, Martu MA, Covasa M. Clindamycin as an Alternative Option in Optimizing Periodontal Therapy. *Antibiotics (Basel)*. 2021 Jul 4;10(7):814. doi: 10.3390/antibiotics10070814.
159. Figuero E, Serrano J, Arweiler NB, Auschill TM, Gürkan A, Emingil G. Supra and subgingival application of antiseptics or antibiotics during periodontal therapy. *Periodontol 2000*. 2023 Sep 28. doi: 10.1111/prd.12511.
160. Yusri S, Elfana A, Elbattawy W, Fawzy El-Sayed KM. Effect of locally delivered adjunctive antibiotics during surgical periodontal therapy: a systematic

- review and meta-analysis. *Clin Oral Investig*. 2021 Sep;25(9):5127-5138. doi: 10.1007/s00784-021-04056-7.
161. Yin IX, Zhang J, Zhao IS, Mei ML, Li Q, Chu CH. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. *Int J Nanomedicine*. 2020 Apr 17;15:2555-2562. doi: 10.2147/IJN.S246764.
 162. Wang Q, Zhang Y, Li Q, Chen L, Liu H, Ding M, Dong H, Mou Y. Therapeutic Applications of Antimicrobial Silver-Based Biomaterials in Dentistry. *Int J Nanomedicine*. 2022 Jan 28;17:443-462. doi: 10.2147/IJN.S349238.
 163. Nasiri K, Masoumi SM, Amini S, Goudarzi M, Tafreshi SM, Bagheri A, et al. Recent advances in metal nanoparticles to treat periodontitis. *J Nanobiotechnology*. 2023 Aug 21;21(1):283. doi: 10.1186/s12951-023-02042-7.
 164. Yu Y, Zhao S, Gu D, Zhu B, Liu H, Wu W, et al. Cerium oxide nanozyme attenuates periodontal bone destruction by inhibiting the ROS-NF κ B pathway. *Nanoscale*. 2022 Feb 17;14(7):2628-2637. doi: 10.1039/d1nr06043k.
 165. Beregova TV, Neporada KS, Skrypnyk M, Falalyeyeva TM, Zholobak NM, Shcherbakov OB, et al. Efficacy of nanocerium for periodontal tissues alteration in glutamate-induced obese rats-multidisciplinary considerations for personalized dentistry and prevention. *EPMA J*. 2017 Mar 14;8(1):43-49. doi: 10.1007/s13167-017-0085-7.
 166. Ren S, Zhou Y, Zheng K, Xu X, Yang J, Wang X, et al. Cerium oxide nanoparticles loaded nanofibrous membranes promote bone regeneration for periodontal tissue engineering. *Bioact Mater*. 2021 Jun 5;7:242-253. doi: 10.1016/j.bioactmat.2021.05.037.
 167. Yanakiev S. Effects of Cinnamon (*Cinnamomum* spp.) in Dentistry: A Review. *Molecules*. 2020 Sep 12;25(18):4184. doi: 10.3390/molecules2518418.
 168. Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, Orr L, Turbide C. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem*. 1987 Jul 5;262(19):9412-20. PMID: 3597417.

169. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol.* 2013 Feb 18;200(4):373-83. doi: 10.1083/jcb.201211138.
170. Mentkowski KI, Snitzer JD, Rusnak S, Lang JK. Therapeutic Potential of Engineered Extracellular Vesicles. *AAPS J.* 2018 Mar 15;20(3):50. doi: 10.1208/s12248-018-0211-z.
171. Yin W, Ouyang S, Li Y, Xiao B, Yang H. Immature dendritic cell-derived exosomes: a promise subcellular vaccine for autoimmunity. *Inflammation.* 2013 Feb;36(1):232-40. doi: 10.1007/s10753-012-9539-1.
172. Cui Y, Hong S, Xia Y, Li X, He X, Hu X, et al. Melatonin Engineering M2 Macrophage-Derived Exosomes Mediate Endoplasmic Reticulum Stress and Immune Reprogramming for Periodontitis Therapy. *Adv Sci (Weinh).* 2023 Sep;10(27):e2302029. doi: 10.1002/advs.202302029.
173. An Y, Zhao R, Liu W, Wei C, Jin L, Zhang M, et al. Quercetin through miR-147-5p/Clip3 axis reducing Th17 cell differentiation to alleviate periodontitis. *Regen Ther.* 2024 May 5;27:496-505. doi: 10.1016/j.reth.2024.04.016.
174. Yang SY, Hu Y, Zhao R, Zhou YN, Zhuang Y, Zhu Y, et al. Quercetin-loaded mesoporous nano-delivery system remodels osteoimmune microenvironment to regenerate alveolar bone in periodontitis via the miR-21a-5p/PDCD4/NF- κ B pathway. *J Nanobiotechnology.* 2024 Mar 6;22(1):94. doi: 10.1186/s12951-024-02352-4.
175. Tili E, Michaille JJ, Adair B, Alder H, Limagne E, Taccioli C, et al. Resveratrol decreases the levels of miR-155 by upregulating miR-663, a microRNA targeting JunB and JunD. *Carcinogenesis.* 2010 Sep;31(9):1561-6. doi: 10.1093/carcin/bgq143.
176. Zhao M, Li P, Xie X, Shi P, Wang Q, Wang J, Xu C. The Critical Role of Polyphenols in Immunomodulation and Periodontal Regeneration. *Oral Dis.* 2025 Jun;31(6):1595-1602. doi: 10.1111/odi.15245.
177. Yetkin Ay Z, Bakır B, Bozkurt ŞB, Kayis SA, Hakki SS. Positive effect of curcumin on experimental periodontitis via suppression of IL-1-beta and IL-6

- expression level. *Int J Vitam Nutr Res.* 2022 Jul;92(3-4):231-239. doi: 10.1024/0300-9831/a000672.
178. Li J, Chai R, Chen Y, Zhao S, Bian Y, Wang X. Curcumin Targeting Non-Coding RNAs in Colorectal Cancer: Therapeutic and Biomarker Implications. *Biomolecules.* 2022 Sep 21;12(10):1339. doi: 10.3390/biom12101339.
 179. Qiu B, Xu X, Yi P, Hao Y. Curcumin reinforces MSC-derived exosomes in attenuating osteoarthritis via modulating the miR-124/NF- κ B and miR-143/ROCK1/TLR9 signalling pathways. *J Cell Mol Med.* 2020 Sep;24(18):10855-10865. doi: 10.1111/jcmm.15714.
 180. Boesch-Saadatmandi C, Loboda A, Wagner AE, Stachurska A, Jozkowicz A, Dulak J, et al. Effect of quercetin and its metabolites isorhamnetin and quercetin-3-glucuronide on inflammatory gene expression: role of miR-155. *J Nutr Biochem.* 2011 Mar;22(3):293-9. doi: 10.1016/j.jnutbio.2010.02.008.
 181. Zoico E, Nori N, Darra E, et al. Senolytic effects of quercetin in an in vitro model of pre-adipocytes and adipocytes induced senescence. *Scientific Reports.* 2021 Dec;11(1):23237. DOI: 10.1038/s41598-021-02544-0.
 182. La X, Zhang L, Li Z, Li H, Yang Y. (-)-Epigallocatechin Gallate (EGCG) Enhances the Sensitivity of Colorectal Cancer Cells to 5-FU by Inhibiting GRP78/NF- κ B/miR-155-5p/MDR1 Pathway. *J Agric Food Chem.* 2019 Mar 6;67(9):2510-2518. doi: 10.1021/acs.jafc.8b06665.
 183. Rodríguez NM, Loren P, Paez I, Burgos V, Martínez-Cardozo C, Chaparro A, Salazar LA. MicroRNAs modulation by isodrimeninol from *Drimys winteri* in periodontitis-associated cellular models: preliminary results. *Front Oral Health.* 2025 May 21;6:1489823. doi: 10.3389/froh.2025.1489823.
 184. Rogalnikovaite K, Antipoviene A, Burbulyte A, Bendoraitiene EA. The impact of systemic administration of polyphenols on periodontitis associated with diabetes mellitus: a systematic review. *Acta Odontol Scand.* 2024 May 3;83:238-248. doi: 10.2340/aos.v83.40484.
 185. Borg DN, Bach AJE, O'Brien JL, Sainani KL. Calculating sample size for reliability studies. *PM&R.* 2022; 14(8): 1018-1025. doi:10.1002/pmrj.12850.

186. Park S, Kim YH, Bang HI, Park Y. Sample size calculation in clinical trial using R. *J Minim Invasive Surg.* 2023 Mar 15;26(1):9-18. doi: 10.7602/jmis.2023.26.1.9.
187. Ahn C, Overall JE, Tonidandel S. Sample size and power calculations in repeated measurement analysis. *Comput Methods Programs Biomed.* 2001 Feb;64(2):121-124. doi: 10.1016/s0169-2607(00)00095-x.
188. Ristl R. Sample size calculation for paired t-test [Internet]. Vienna: Medical University of Vienna; c2023 [cited 2025 Jan 2]. Available from: <https://homepage.univie.ac.at/robin.ristl/samplesize.php?test=pairedttest>.
189. Sample-size.net. Sample size calculation for paired t-test [Internet]. c2024 [cited 2025 Jan 2]. Available from: <https://sample-size.net/sample-size-study-paired-t-test/>
190. Bruin J. Newtest: command to compute new test [Internet]. Los Angeles (CA): UCLA Statistical Consulting Group; 2006 [cited 2025 Jan 2]. Available from: <https://stats.oarc.ucla.edu/stata/ado/analysis/>
191. Meseli SE, Kuru B, Kuru L. Relationships between initial probing depth and changes in the clinical parameters following non-surgical periodontal treatment in chronic periodontitis. *J Istanb Univ Fac Dent.* 2017 Oct 2;51(3):11-17. doi: 10.17096/jiufd.40993.
192. El-Bialy T, Alobeid A, Dirk C, Jäger A, Keilig L, Bourauel C. Comparison of force loss due to friction of different wire sizes and materials in conventional and new self-ligating orthodontic brackets during simulated canine retraction. *J Orofac Orthop.* 2019 Mar;80(2):68-78. doi: 10.1007/s00056-019-00168-8.
193. Slade GD, Spencer AJ. Development and evaluation of the Oral Health Impact Profile. *Community Dent Health.* 1994 Mar;11(1):3-11. PMID: 8193981.
194. Locker D. Measuring oral health: a conceptual framework. *Community Dent Health.* 1988 Mar;5(1):3-18.
195. Montero-Martín J, Bravo-Pérez M, Albaladejo-Martínez A, Hernández-Martín LA, Rosel-Gallardo EM. Validation the Oral Health Impact Profile (OHIP-

- 14sp) for adults in Spain. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009 Jan 1;14(1):E44-50. PMID: 19114956.
196. Montasser MA, Keilig L, El-Bialy T, Reimann S, Jäger A, Bourauel C. Effect of archwire cross-section changes on force levels during complex tooth alignment with conventional and self-ligating brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2015 Apr;147(4 Suppl):S101-8. doi: 10.1016/j.ajodo.2014.11.024.
 197. Landry RG, Jean M. Periodontal Screening and Recording (PSR) Index: precursors, utility and limitations in a clinical setting. *Int Dent J*. 2002 Feb;52(1):35-40. doi: 10.1111/j.1875-595x.2002.tb00595.x.
 198. Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *J Clin Periodontol*. 2018 Jun;45 Suppl 20:S9-S16. doi: 10.1111/jcpe.12936.
 199. Lang NP, Adler R, Joss A, Nyman S. Absence of bleeding on probing. An indicator of periodontal stability. *J Clin Periodontol*. 1990 Nov;17(10):714-21. doi: 10.1111/j.1600-051x.1990.tb01059.x.
 200. Joss A, Adler R, Lang NP. Bleeding on probing. A parameter for monitoring periodontal conditions in clinical practice. *J Clin Periodontol*. 1994 Jul;21(6):402-8. doi: 10.1111/j.1600-051x.1994.tb00737.x.
 201. Perio-tools.com. Supportive periodontal therapy [Internet]. c2025 [cited 2025 Jan 3]. Available from: <https://www.perio-tools.com/spt/uk/>.
 202. Hujoel PP, DeRouen TA. A survey of endpoint characteristics in periodontal clinical trials published 1988-1992, and implications for future studies. *J Clin Periodontol*. 1995 May;22(5):397-407. doi: 10.1111/j.1600-051x.1995.tb00167.x.
 203. Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease. *Aust Dent J*. 2009 Sep;54 Suppl 1:S11-26. doi: 10.1111/j.1834-7819.2009.01140.x.
 204. Tomasi C, Wennström JL. Is the use of differences in the magnitude of CAL gain appropriate for making conclusions on the efficacy of non-surgical therapeutic means? *J Clin Periodontol*. 2017 Jun;44(6):601-602. doi: 10.1111/jcpe.12733.
 205. Citterio F, Gualini G, Chang M, Piccoli GM, Giraudi M, Manavella V, et al. Pocket closure and residual pockets after non-surgical periodontal therapy: A

- systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2022 Jan;49(1):2-14. doi: 10.1111/jcpe.13547.
206. Ryan ME. Clinical attachment level change as an outcome measure for therapies that slow the progression of periodontal disease. *J Int Acad Periodontol*. 2005 Oct;7(4 Suppl):162-71; discussion 172-4. PMID: 16248273.
 207. Haffajee AD, Socransky SS. Attachment level changes in destructive periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 1986 May;13(5):461-75. doi: 10.1111/j.1600-051x.1986.tb01491.x.
 208. Knowles JW, Burgett FG, Nissle RR, Shick RA, Morrison EC, Ramfjord SP. Results of periodontal treatment related to pocket depth and attachment level. Eight years. *J Periodontol*. 1979 May;50(5):225-33. doi: 10.1902/jop.1979.50.5.225.
 209. Lindhe J, Nyman S. Long-term maintenance of patients treated for advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1984 Sep;11(8):504-14. doi: 10.1111/j.1600-051x.1984.tb00902.x.
 210. Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *J Clin Periodontol*. 2018; 45(Suppl 20): S44–S67. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12939>.
 211. Ramseier C.A. Periodontal Chart Online – digital periodontal charting tool [Internet]. Bern: University of Bern, Switzerland. c2025 [cited 2025 Jan 3]. Available from: <https://www.periodontalchart-online.com/uk/#>.
 212. Sanz M, Herrera D, Kebschull M, Chapple I, Jepsen S, Beglundh T, et al. EFP Workshop Participants and Methodological Consultants. Treatment of stage I-III periodontitis-The EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol*. 2020 Jul;47 Suppl 22(Suppl 22):4-60. doi: 10.1111/jcpe.13290.
 213. Ramseier C.A. Oral Hygiene Instruction online [Internet]. Bern: University of Bern, Switzerland. c2025 [cited 2025 Jan 3]. Available from: <https://www.oralhygiene-instruction.com/en/>.
 214. Ramseier C.A. Periodontal-health.com [Internet]. Bern: University of Bern, Switzerland. c2025 [cited 2025 Jan 3]. Available from: <https://www.periodontal-health.com>.

215. Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, Speleman F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol.* 2002 Jun 18;3(7):RESEARCH0034. doi: 10.1186/gb-2002-3-7-research0034.
216. Hai R, Chu A, Li H, Umamoto S, Rider P, Liu F. Infection of human cytomegalovirus in cultured human gingival tissue. *Virol J.* 2006 Oct 5;3:84. doi: 10.1186/1743-422X-3-84.
217. Holtfreter B, Albandar JM, Dietrich T, Dye BA, Eaton KA, Eke PI, et al.; Joint EU/USA Periodontal Epidemiology Working Group. Standards for reporting chronic periodontitis prevalence and severity in epidemiologic studies: Proposed standards from the Joint EU/USA Periodontal Epidemiology Working Group. *J Clin Periodontol.* 2015 May;42(5):407-12. doi: 10.1111/jcpe.12392.
218. Bertl K, Vlachou S, Pandis N, Zampelis A, Stavropoulos A. Repeated local delivery of hyaluronic acid gel as adjunctive treatment of residual pockets in periodontitis patients undergoing supportive periodontal care. A randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2024 Feb 20;28(2):158. doi: 10.1007/s00784-024-05505-9.
219. Werner N, Heck K, Walter E, Ern C, Bumm CV, Folwaczny M. Probing pocket depth reduction after non-surgical periodontal therapy: Tooth-related factors. *J Periodontol.* 2024 Jan;95(1):29-39. doi: 10.1002/JPER.23-0285.
220. Ribeiro FV, Mehta JJ, Monteiro MF, Moore J, Casati MZ, Nibali L. Minimal invasiveness in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol 2000.* 2023 Feb;91(1):7-19. doi: 10.1111/prd.12476.
221. Citterio F, Kanmaz B, Baima G, Romano F, Buduneli N, Aimetti M. Pocket closure in stage III-IV grade C periodontitis: A multilevel analysis following non-surgical periodontal therapy. *Int J Dent Hyg.* 2024 Aug;22(3):547-553. doi: 10.1111/idh.12688.
222. Ramseier CA, Mirra D, Schütz C, Sculean A, Lang NP, Walter C, Salvi GE. Bleeding on probing as it relates to smoking status in patients enrolled in supportive

- periodontal therapy for at least 5 years. *J Clin Periodontol*. 2015 Feb;42(2):150-9. doi: 10.1111/jcpe.12344.
223. Memon M.A., Shahidan W.N.S., Mizusawa N. Kannan T.P., Mahmood R., Mustaffa K.M.F., Ashraf U. MicroRNAs as diagnostic biomarkers in periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Odontology*. 2026. <https://doi.org/10.1007/s10266-025-01299-8>
 224. Asa'ad F, Garaicoa-Pazmiño C, Dahlin C, Larsson L. Expression of MicroRNAs in Periodontal and Peri-Implant Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci*. 2020 Jun 10;21(11):4147. doi: 10.3390/ijms21114147.
 225. Chen H, Lan Z, Li Q, Li Y. Abnormal expression of long noncoding RNA FGD5-AS1 affects the development of periodontitis through regulating miR-142-3p/SOCS6/NF-κB pathway. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2019 Dec;47(1):2098-2106. doi: 10.1080/21691401.2019.1620256.
 226. Valverde A, Nares S, Naqvi AR. Impaired cell migration and structural defects in myeloid cells overexpressing miR-30b and miR-142-3p. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*. 2020 Nov;1863(11):194628. doi: 10.1016/j.bbagma.2020.194628.
 227. Mestdagh P, Hartmann N, Baeriswyl L. et al. Evaluation of quantitative miRNA expression platforms in the microRNA quality control (miRQC) study. *Nat Methods*. 2014 Aug;11(8):809-15. doi: 10.1038/nmeth.3014.
 228. Luan X, Zhou X, Naqvi A, Francis M, Foyle D, Nares S, Diekwisch TGH. MicroRNAs and immunity in periodontal health and disease. *Int J Oral Sci*. 2018 Aug 6;10(3):24. doi: 10.1038/s41368-018-0025-y.
 229. Buragaite-Staponkiene B, Rovas A, Puriene A, Snipaitiene K, Punceviciene E, Rimkevicius A, et al. Gingival Tissue MiRNA Expression Profiling and an Analysis of Periodontitis-Specific Circulating MiRNAs. *Int J Mol Sci*. 2023 Jul 26;24(15):11983. doi: 10.3390/ijms241511983.

230. Xie YF, Shu R, Jiang SY, Liu DL, Zhang XL. Comparison of microRNA profiles of human periodontal diseased and healthy gingival tissues. *Int J Oral Sci.* 2011 Jul;3(3):125-34. doi: 10.4248/IJOS11046.
231. Ruiz-Villalba A, Ruijter JM, van den Hoff MJB. Use and Misuse of Cq in qPCR Data Analysis and Reporting. *Life (Basel).* 2021 May 29;11(6):496. doi: 10.3390/life11060496.
232. Venugopal P, Koshy T, Lavu V, Rao SR, Ramasamy S, Dhanasekaran A, Hariharan S, Venkatesan V. Unravelling co-expressed microRNAs in periodontitis - significance for regulatory networks in inflammation and therapeutic targets. *Gene.* 2025 Oct 15;969:149759. doi: 10.1016/j.gene.2025.149759.
233. Li X, Chang Y, Shen W, Huang G, Hu N, Lv H, Jin M. miR-138 from ADSC Exo accelerates wound healing by targeting SIRT1/PTEN pathway to promote angiogenesis and fibrosis. *Cell Signal.* 2023 Nov;111:110843. doi: 10.1016/j.cellsig.2023.110843.
234. Brito VGB, Bell-Hensley A, McAlinden A. MicroRNA-138: an emerging regulator of skeletal development, homeostasis, and disease. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2023 Dec 1;325(6):C1387-C1400. doi: 10.1152/ajpcell.00382.2023.
235. Chen Y, Zhang C. Role of noncoding RNAs in orthodontic tooth movement: new insights into periodontium remodeling. *J Transl Med.* 2023 Feb 9;21(1):101. doi: 10.1186/s12967-023-03951-9.
236. Mann, M., Mehta, A., Zhao, J.L. et al. An NF- κ B-microRNA regulatory network tunes macrophage inflammatory responses. *Nat Commun* 8, 851 (2017). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00972-z>
237. Ceppi M, Pereira PM, Dunand-Sauthier I, Barras E, Reith W, Santos MA, Pierre P. MicroRNA-155 modulates the interleukin-1 signaling pathway in activated human monocyte-derived dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Feb 24;106(8):2735-40. doi: 10.1073/pnas.0811073106.
238. Bandyopadhyay S, Long ME, Allen LA. Differential expression of microRNAs in *Francisella tularensis*-infected human macrophages: miR-155-

- dependent downregulation of MyD88 inhibits the inflammatory response. *PLoS One*. 2014 Oct 8;9(10):e109525. doi: 10.1371/journal.pone.0109525.
239. Kong W, He L, Coppola M, Guo J, Esposito NN, Coppola D, Cheng JQ. MicroRNA-155 regulates cell survival, growth, and chemosensitivity by targeting FOXO3a in breast cancer. *J Biol Chem*. 2010 Jun 4;285(23):17869-79. doi: 10.1074/jbc.M110.101055.
 240. Zhang G, Estève PO, Chin HG, Terragni J, Dai N, Corrêa IR Jr, Pradhan S. Small RNA-mediated DNA (cytosine-5) methyltransferase 1 inhibition leads to aberrant DNA methylation. *Nucleic Acids Res*. 2015 Jul 13;43(12):6112-24. doi: 10.1093/nar/gkv518.
 241. Liu J, Jiang X, Liu K, Deng J, Qiu Y, Wei W, Yang C. Role of LINC00240 on T-helper 9 differentiation in allergic rhinitis through influencing DNMT1-dependent methylation of PU.1. *Immunol Res*. 2024 Apr;72(2):197-211. doi: 10.1007/s12026-023-09435-8.
 242. Stoecklin-Wasmer C, Guarnieri P, Celenti R, Demmer RT, Kebschull M, Papapanou PN. MicroRNAs and their target genes in gingival tissues. *J Dent Res*. 2012 Oct;91(10):934-40. doi: 10.1177/0022034512456551.
 243. Daily ZA, Al-Ghurabi BH, Al-Qarakhli AMA, Moseley R. MicroRNA-155 (miR-155) as an accurate biomarker of periodontal status and coronary heart disease severity: a case-control study. *BMC Oral Health*. 2023 Nov 16;23(1):868. doi: 10.1186/s12903-023-03584-w.
 244. Fan X, Gao Y, Zhang X, Lughmani HY, Kennedy DJ, Haller ST, Pierre SV, Shapiro JJ, Tian J. A strategic expression method of miR-29b and its anti-fibrotic effect based on RNA-sequencing analysis. *PLoS One*. 2020 Dec 17;15(12):e0244065. doi: 10.1371/journal.pone.0244065.
 245. Liu Z, Liu H, Yu D, Gao J, Ruan B, Long R. Downregulation of miR29b3p promotes α tubulin deacetylation by targeting the interaction of matrix metalloproteinase9 with integrin β 1 in nasal polyps. *Int J Mol Med*. 2021 Jul;48(1):126. doi: 10.3892/ijmm.2021.4959.

246. Ma YH, Deng WJ, Luo ZY, Jing J, Pan PW, Yao YB, et al. Inhibition of microRNA-29b suppresses oxidative stress and reduces apoptosis in ischemic stroke. *Neural Regen Res.* 2022 Feb;17(2):433-439. doi: 10.4103/1673-5374.314319.
247. Lv X, Lu P, Hu Y, Xu T. Overexpression of MiR-29b-3p Inhibits Atrial Remodeling in Rats by Targeting PDGF-B Signaling Pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2021 Jan 13;2021:3763529. doi: 10.1155/2021/3763529.
248. Chen HX, Xu XX, Tan BZ, Zhang Z, Zhou XD. MicroRNA-29b Inhibits Angiogenesis by Targeting VEGFA through the MAPK/ERK and PI3K/Akt Signaling Pathways in Endometrial Carcinoma. *Cell Physiol Biochem.* 2017;41(3):933-946. doi: 10.1159/000460510.
249. Sun QR, Zhang X, Fang K. Phenotype of Vascular Smooth Muscle Cells (VSMCs) Is Regulated by miR-29b by Targeting Sirtuin 1. *Med Sci Monit.* 2018 Sep 19;24:6599-6607. doi: 10.12659/MSM.910068. Retraction in: *Med Sci Monit.* 2021 Dec 09;27:e935749. doi: 10.12659/MSM.935749.
250. Garzon R, Liu S, Fabbri M, Liu Z, Heaphy CE, Callegari E, et al. MicroRNA-29b induces global DNA hypomethylation and tumor suppressor gene reexpression in acute myeloid leukemia by targeting directly DNMT3A and 3B and indirectly DNMT1. *Blood.* 2009 Jun 18;113(25):6411-8. doi: 10.1182/blood-2008-07-170589.
251. Grassilli S, Bertagnolo V, Brugnoli F. Mir-29b in Breast Cancer: A Promising Target for Therapeutic Approaches. *Diagnostics (Basel).* 2022 Sep 2;12(9):2139. doi: 10.3390/diagnostics12092139.
252. Liu J, Li W, Wang S, Wu Y, Li Z, Wang W, et al. MiR-142-3p attenuates the migration of CD4⁺ T cells through regulating actin cytoskeleton via RAC1 and ROCK2 in arteriosclerosis obliterans. *PLoS One.* 2014 Apr 17;9(4):e95514. doi: 10.1371/journal.pone.0095514.
253. Valverde MA, Schaller S, Brandini DA, Brambila MF, Martinez G, Chapa G, et al. Periopathogens Modulate Inflammation by Repressing miR-142-3p and

- Augmenting miR-155/NFκB axis. *J Immunol.* 2022 May 208; Issue Supplement_1: 111.17, <https://doi.org/10.4049/jimmunol.208.Supp.111.17>
254. Zhang P, Song X, Dong Q, Zhou L, Wang L. miR-27-3p inhibition restore fibroblasts viability in diabetic wound by targeting NOVA1. *Aging (Albany NY).* 2020 Jun 26;12(13):12841-12849. doi: 10.18632/aging.103266.
 255. Zhou Q., Gallagher R., Ufret-Vincenty R., Li X., Olson E.N., Wang S. Regulation of angiogenesis and choroidal neovascularization by members of microRNA-23~27~24 clusters. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011;108:8287–8292. doi: 10.1073/pnas.1105254108
 256. Luo X, Xu ZX, Wu JC, Luo SZ, Xu MY. Hepatocyte-derived exosomal miR-27a activates hepatic stellate cells through the inhibition of PINK1-mediated mitophagy in MAFLD. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2021 Nov 3;26:1241-1254. doi: 10.1016/j.omtn.2021.10.022.
 257. Ye Z, Hu J, Xu H, Sun B, Jin Y, Zhang Y, Zhang J. Serum Exosomal microRNA-27-3p Aggravates Cerebral Injury and Inflammation in Patients with Acute Cerebral Infarction by Targeting PPARγ. *Inflammation.* 2021 Jun;44(3):1035-1048. doi: 10.1007/s10753-020-01399-3. Epub 2021 Jan 4. Erratum in: *Inflammation.* 2023 Apr;46(2):779. doi: 10.1007/s10753-022-01717-x.
 258. Ben-Ami O, Pencovich N, Lotem J, Levanon D, Groner Y. A regulatory interplay between miR-27a and Runx1 during megakaryopoiesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Jan 6;106(1):238-43. doi: 10.1073/pnas.0811466106.
 259. Duwe L, Munoz-Garrido P, Lewinska M, Lafuente-Barquero J, Satriano L, Høgdall D, et al. MicroRNA-27a-3p targets FoxO signalling to induce tumour-like phenotypes in bile duct cells. *J Hepatol.* 2023 Feb;78(2):364-375. doi: 10.1016/j.jhep.2022.10.012.
 260. Qiao B, He BX, Cai JH, Tao Q, King-Yin Lam A. MicroRNA-27a-3p Modulates the Wnt/β-Catenin Signaling Pathway to Promote Epithelial-Mesenchymal Transition in Oral Squamous Carcinoma Stem Cells by Targeting SFRP1. *Sci Rep.* 2017 Apr 20;7:44688. doi: 10.1038/srep44688.

261. Akhtar N, Rasheed Z, Ramamurthy S, Anbazhagan AN, Voss FR, Haqqi TM. MicroRNA-27b regulates the expression of matrix metalloproteinase 13 in human osteoarthritis chondrocytes. *Arthritis Rheum.* 2010 May;62(5):1361-71. doi: 10.1002/art.27329.
262. Jin Y, He Y, Wu Y, Wang X, Lyu L, Zhang K, et al. CircRNA_SLC8A1 alleviates hypertrophic scar progression by mediating the Nrf2-ARE pathway. *Mol Biol Rep.* 2024 Oct 18;51(1):1067. doi: 10.1007/s11033-024-10018-5.
263. Bayati P, Kalantari M, Assarehzadegan MA, Poormoghimi H, Mojtavavi N. MiR-27a as a diagnostic biomarker and potential therapeutic target in systemic sclerosis. *Sci Rep.* 2022 Nov 7;12(1):18932. doi: 10.1038/s41598-022-23723-7.
264. Ge X, Yuan L, Wei J, Nguyen T, Tang C, Liao W, et al. Vitamin D/VDR signaling induces miR-27a/b expression in oral lichen planus. *Sci Rep.* 2020 Jan 15;10(1):301. doi: 10.1038/s41598-019-57288-9.
265. Li Y, Zheng J, Gong C, Lan K, Shen Y, Ding X. Development of an immunogenomic landscape for the competing endogenous RNAs network of peri-implantitis. *BMC Med Genet.* 2020;21(1):208. doi: 10.1186/s12881-020-01145-4.
266. Yu SL. Diagnostic potential of miR-200 family members in gingival crevicular fluid for chronic periodontitis: correlation with clinical parameters and therapeutic implications. *BMC Oral Health* 23, 532 (2023). <https://doi.org/10.1186/s12903-023-03174-w>.
267. Reda El Sayed S, Cristante J, Guyon L, Denis J, Chabre O, Cherradi N. MicroRNA Therapeutics in Cancer: Current Advances and Challenges. *Cancers (Basel).* 2021 May 29;13(11):2680. doi: 10.3390/cancers13112680.
268. Balu P, Balakrishna Pillai AK, Mariappan V, Ramalingam S. Cytokine levels in gingival tissues as an indicator to understand periodontal disease severity. *Curr Res Immunol.* 2024 Jun 23;5:100080. doi: 10.1016/j.crimmu.2024.100080.
269. Caldeira FID, Hidalgo MAR, De Carli Dias ML, Scarel-Caminaga RM, Pigossi SC. Systematic review of ratios between disease /health periodontitis modulators and meta-analysis of their levels in gingival tissue and biological fluids. *Arch Oral Biol.* 2021 Jul;127:105147. doi: 10.1016/j.archoralbio.2021.105147.

270. Chekalina N, Burmak Y, Petrov Y, Borisova Z, Manusha Y, Kazakov Y, Kaidashev I. Quercetin reduces the transcriptional activity of NF-kB in stable coronary artery disease. *Indian Heart J.* 2018 Sep-Oct;70(5):593-597. doi: 10.1016/j.ihj.2018.04.006.
271. Deng YT, Wu KJ, Kuo MY. Phenytoin induces connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) production through NADPH oxidase 4-mediated latent TGFβ1 activation in human gingiva fibroblasts: Suppression by curcumin. *J Periodontal Res.* 2022 Dec;57(6):1219-1226. doi: 10.1111/jre.13058.
272. Divya Bharathi S, Aiswarya SP, Sankar AR. Comparative evaluation of the efficacy of Triphala mouthwash and Curcumin mouthwash in the treatment of gingivitis - A randomized controlled study. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2024 Jul-Aug;14(4):407-414. doi: 10.1016/j.jobcr.2024.05.002.
273. Fan Q, Zhou XH, Wang TF, Zeng FJ, Liu X, Gu Y, et al. Effects of epigallocatechin-3-gallate on oxidative stress, inflammation, and bone loss in a rat periodontitis model. *J Dent Sci.* 2023 Oct;18(4):1567-1575. doi: 10.1016/j.jds.2023.02.019.
274. Kamaraj B. Exploring the Therapeutic Potential of Epigallocatechin-3-gallate (Green Tea) in Periodontitis Using Network Pharmacology and Molecular Modeling Approach. *Int J Mol Sci.* 2025 Sep 19;26(18):9144. doi: 10.3390/ijms26189144.
275. Lashari DM, Aljunaid MA, Ridwan RD, Diyatri I, Lashari Y, Qaid H, Surboyo MDC. The ability of mucoadhesive gingival patch loaded with EGCG on IL-6 and IL-10 expression in periodontitis. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2022 Sep-Oct;12(5):679-682. doi: 10.1016/j.jobcr.2022.08.007.
276. Mollazadeh H, Cicero AFG, Blesso CN, Pirro M, Majeed M, Sahebkar A. Immune modulation by curcumin: The role of interleukin-10. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2019;59(1):89-101. doi: 10.1080/10408398.2017.1358139.
277. Yuliati Y, Mahdani FY, Margaretha SA, Yastuti WTP, Surboyo MDC, Aljunaid MA, et al. The EGCG and α-Mangosteen Stimulate SHED-IL10 and

- SHED-LL37 Metabolite Concentration. *Eur J Dent.* 2024 Feb;18(1):138-142. doi: 10.1055/s-0043-1761460.
278. Radović N, Nikolić Jakoba N, Petrović N, Milosavljević A, Brković B, Roganović J. MicroRNA-146a and microRNA-155 as novel crevicular fluid biomarkers for periodontitis in non-diabetic and type 2 diabetic patients. *J Clin Periodontol.* 2018 Jun;45(6):663-671. doi: 10.1111/jcpe.12888.
 279. Cosín-Villanueva M, Almiñana-Pastor PJ, García-Giménez JL, López-Roldán A. Study of microRNAs in Gingival Crevicular Fluid as Periodontal Diseases Biomarkers: Systematic Review. *Int J Mol Sci.* 2024 Jul 29;25(15):8274. doi: 10.3390/ijms25158274.
 280. Maudet C, Mano M, Eulalio A. MicroRNAs in the interaction between host and bacterial pathogens. *FEBS Lett.* 2014 Nov 17;588(22):4140-7. doi: 10.1016/j.febslet.2014.08.002.
 281. Kingman A, Susin C, Albandar JM. Effect of partial recording protocols on severity estimates of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2008 Aug;35(8):659-67. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01243.x.
 282. Ramanauskaite E, Machiulskiene V, Shirakata Y, Dvyliene UM, Nedzelskiene I, Sculean A. Clinical evaluation of sodium hypochlorite/amino acids and cross-linked hyaluronic acid adjunctive to non-surgical periodontal treatment: a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2023 Nov;27(11):6645-6656. doi: 10.1007/s00784-023-05271-0.
 283. Sahu SA, Panda S, Das AC, Mishra L, Rath S, Sokolowski K, et al. Efficacy of Sub-Gingivally Delivered Propolis Nanoparticle in Non-Surgical Management of Periodontal Pocket: A Randomized Clinical Trial. *Biomolecules.* 2023 Oct 26;13(11):1576. doi: 10.3390/biom13111576.
 284. Pei XY, Yang W, Ouyang XY, Sun F. Comparison of clinical effects between periodontal endoscopy aiding subgingival debridement and flap surgery. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2023 Aug 18;55(4):716-720. Chinese. doi: 10.19723/j.issn.1671-167X.2023.04.024.

285. Gunjal S, Hampiholi V, Ankola AV, Pateel DGS. Comparison of the effectiveness of *Morus alba* and chlorhexidine gels as an adjunct to scaling and root planing on stage II periodontitis - A randomized controlled clinical trial. *Int J Dent Hyg*. 2024 Aug;22(3):717-726. doi: 10.1111/idh.12781.
286. Abdel-Fatah R, Mowafey B, Baiomy A, Elmeadawy S. Efficacy of curcumin gel as an adjunct to scaling and root planing on salivary procalcitonin level in the treatment of patients with chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *BMC Oral Health*. 2023 Nov 19;23(1):883. doi: 10.1186/s12903-023-03512-y.
287. Mathew CA, Veena HR, Shubha P, Daniel RA. Antimicrobial photocatalysis using bio-hydrothermally synthesized Zinc oxide nanoparticles in the management of periodontitis: a prospective split-mouth, double-blind, randomized, controlled clinical trial. *J Appl Oral Sci*. 2023 Dec 18;31:e20230271. doi: 10.1590/1678-7757-2023-0271.
288. Eldessouky HF, Marie M. Nonsurgical Treatment of Periodontitis in Menopausal Patients: A Randomized Control Trial. *Biomed Res Int*. 2024 Mar 13;2024:6997142. doi: 10.1155/2024/6997142.
289. Salian S, Dhadse PV, Patil R, Punse S. Comparative Evaluation of Effectiveness of Omega-3 Fatty Acids as an Adjunct to SRP with Conventional SRP: A Randomized Clinical Trial. *J Contemp Dent Pract*. 2024 May 1;25(5):440-444. doi: 10.5005/jp-journals-10024-3690.
290. Prasanth T, Singh H, Krishna A, Saravanan SP, Satisha TS, Anand KB, Bahal VA. Clinico-immunological evaluation of use of omega-3 fatty acids as nutraceutical approach in management of patients with chronic periodontitis: A randomized clinical trial. *Med J Armed Forces India*. 2024 Jul-Aug;80(4):449-457. doi: 10.1016/j.mjafi.2024.04.013.
291. Nisha S, Das D, Kulavi S, Shashikumar P. Comparative evaluation of hydrogen peroxide and chlorhexidine mouthwash on salivary interleukin-1 β levels in patients with type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis: A randomized controlled clinical trial. *Journal of Oral Research*. 2024; 13(1):47-58.

292. Pathan D, Almarghlani A, Alkhallagi T, Al-Ghalib Alsharif T, Eshky R, Niyazi A, et al. A comparative evaluation of open flap debridement in combination with Nd: YAG laser for management of periodontal disease: A clinical and microbiological study. *Lasers in Dental Science*. 2024; 8(1):11. <https://doi.org/10.1007/s41547-024-00248-3>.
293. Boyapati R, Peeta J, Dhulipalla R, Kolaparthi L, Adurty C, Cheruvu RNS. Comparative evaluation of the efficacy of probiotic, Aloe vera, povidone-iodine, and chlorhexidine mouthwashes in the treatment of gingival inflammation: A randomized controlled trial. *Dental and Medical Problems*. 2024; 61(2): 181–189. <https://doi.org/10.17219/dmp/156425>.
294. Alarcón-Moreno JC, Flores-Muñoz M, Blázquez-Morales MSL, García-Rivera ME, Rodríguez-Alba JC, Castro-López et al. The effects of non-surgical periodontal treatment plus zinc and magnesium supplementation on oxidative stress and antioxidant enzymes in type 2 diabetes patients: A quasi-experimental study. *BMC Oral Health*. 2024; 24(1):892. <https://doi.org/10.1186/s12903-024-04688-7>.
295. Waqar SM, Razi A, Qureshi SS, Saher F, Zaidi SJA, Kumar C. Comparative evaluation of propolis mouthwash with 0.2% chlorhexidine mouthwash as an adjunct to mechanical therapy in improving periodontitis among perimenopausal women: A randomized controlled trial. *BMC Oral Health*. 2024; 24(1):26. <https://doi.org/10.1186/s12903-023-03768-4>.
296. Anwar SK, Hafez AM, Roshdy YS. Clinical and microbiological efficacy of intra-pocket application of diode laser in grade C periodontitis: A randomized controlled clinical trial. *BMC Oral Health*. 2024; 24(1): 270. <https://doi.org/10.1186/s12903-024-04031-0>.
297. Brinar S, Skvarča A, Gašpirc B, Schara R. The effect of antimicrobial photodynamic therapy on periodontal disease and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clinical Oral Investigations*. 2023; 27(10): 6235-6244. <https://doi.org/10.1007/s00784-023-05239-0>.

298. Liang L, Sheng Y, Wang M, Li X, Cheng Z. Effectiveness of internet-based nursing interventions for the treatment of patients with periodontitis. *BMC Oral Health*. 2024; 24(1): 386. <https://doi.org/10.1186/s12903-024-04147-3>.
299. Elebyary O, Sun C, Batistella EA, Van Dyke TE, Low SB, Singhal S, et al. Utilizing Oral Neutrophil Counts as an Indicator of Oral Inflammation Associated With Periodontal Disease: A Blinded Multicentre Study. *J Clin Periodontol*. 2024 Nov;51(11):1410-1420. doi: 10.1111/jcpe.14054.
300. Singh A, Vasudevan S, Palle AR, Atchuta A, Bhadauriya S. Comparative Evaluation of Scaling and Root Planing with and without Oxygen-releasing Gel in the Treatment of Chronic Periodontitis: A Split-mouth Study. *J Contemp Dent Pract*. 2024 May 1;25(5):445-452. doi: 10.5005/jp-journals-10024-3689.
301. Nedumaran N, Rajasekar A. Efficacy of Rose Bengal-Mediated Antimicrobial Photodynamic Therapy as an Adjunct to Scaling and Root Planing on Clinical and Microbiological Parameters in the Management of Chronic Periodontitis: A Single-Blinded, Randomized Controlled Clinical Trial. *Photobiomodul Photomed Laser Surg*. 2024 Aug;42(8):561-567. doi: 10.1089/pho.2024.0037.
302. Pawar AR, Rajasekar A. Evaluation of Clinical Efficacy of 1.2% Rosuvastatin Hydrogel as an Adjunct to Scaling and Root Planing in Generalized Chronic Periodontitis. *Cureus*. 2024 May 24;16(5):e61008. doi: 10.7759/cureus.61008.
303. Son S, Lee E. Studying the Impact of Non-Surgical Periodontal Treatment on Glycosylated Hemoglobin Level in Non-Diabetic People. *Ann Dent Spec*. 2024;12(3):1-6. <https://doi.org/10.51847/UevUGpXDMF>.
304. Aljuboori IW, Mahmood MS, Al-Rihaymee SA. Clinical Effectiveness of *Salvia officinalis* in Periodontitis: A Split-Mouth Randomized Controlled Trial. *Cureus*. 2024 Apr 19;16(4):e58582. doi: 10.7759/cureus.58582.
305. Archana AB, Ramesh R, Varghese J, Anoop S. Comparison of Conventional and Microsurgical Access Flap Procedure in Managing Chronic Periodontitis: A

- Randomized Controlled Trial. *Contemp Clin Dent*. 2024 Apr-Jun;15(2):118-123. doi: 10.4103/ccd.ccd_151_23..
306. Levrini L, Rossini M, Truppello E, Sevi S, Fiorini E, Benedicenti S, et al. Evaluation of Sterify Gel as an Adjunctive Treatment to Scaling and Root Planing in Promoting Healing of Periodontal Pockets: A Split-Mouth Randomized Controlled Trial. *Int J Dent*. 2024 Jan 4;2024:3113479. doi: 10.1155/2024/3113479.
 307. Needleman I, Almond N, Leow N, Phillips J. Outcomes of periodontal therapy: Strengthening the relevance of research to patients. A co-created review. *Periodontol 2000*. 2023; 00: 1-15. doi:10.1111/prd.12483.
 308. Sharma P, Yonel Z, Busby M, Chapple IL, Dietrich T. Association between periodontal health status and patient-reported outcomes in patients managed in a non-specialist, general dental practice. *J Clin Periodontol*. 2018 Dec;45(12):1440-1447. doi: 10.1111/jcpe.13022..
 309. Білан ВО, Бандрівський ЮЛ. Клінічна ефективність лікування хронічного генералізованого пародонтиту в пацієнтів-військовослужбовців ЗСУ. *Клінічна Стоматологія*. 2024; (2): С4–12. DOI: <https://doi.org/10.11603/2311-9624.2024.2.14832>
 310. Горбань І, Пасічник М, Микиєвич Н, Микиєвич Н. Ефективність лікування захворювань пародонта в осіб середнього віку. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024; 24(1):51-55. DOI: <https://doi.org/10.31718/2077-1096.24.1.51>.
 311. Случевська О, Павленко О, Мочалов ЮО, Гелей НІ. Аналіз стану тканин пародонту в динаміці під час місцевого лікування пацієнтів з генералізованим пародонтитом. *East Ukr Med J*. 2023; 11(3):291-301. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2023.11\(3\):291-301](https://doi.org/10.21272/eumj.2023.11(3):291-301).
 312. Шевчук М, Шкребнюк Р, Дирик В, Виноградова О, Слобода А. Динаміка індексних оцінок після комплексного лікування захворювань пародонта у осіб із загальносоматичною патологією. Експериментальна і

клінічна медицина. 2023; 92(1):41-50. DOI: <https://doi.org/10.35339/ekm.2023.92.1.ssd>.

313. Ремезюк ІГ, Авдєєв ОВ. Оцінка застосування місцевих лікувальних засобів у пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом. Клінічна Стоматологія. 2023; (2-3):56–64. DOI: <https://doi.org/10.11603/2311-9624.2023.2-3.14093>.
314. Фурдичко АІ, Федун ІР, Ільчишин МП, Ган ІВ, Пасічник МА. Оцінка стану тканин пародонта у хворих із соматичною патологією. Український журнал медицини, біології та спорту. 2023; 8(1):41. DOI: <https://doi.org/10.32782/3041-1394.2024-2.5>
315. Wang Y, Zeng J, Yuan Q, Luan Q. Efficacy of (-)-epigallocatechin gallate delivered by a new-type scaler tip during scaling and root planing on chronic periodontitis: a split-mouth, randomized clinical trial. BMC Oral Health. 2021 Feb 18;21(1):79. doi: 10.1186/s12903-021-01418-1.
316. Higuchi M, Abiko Y, Washio J, Takahashi N. Antimicrobial effects of epigallocatechin-3-gallate, a catechin abundant in green tea, on periodontal disease-associated bacteria. Arch Oral Biol. 2024 Nov;167:106063. doi: 10.1016/j.archoralbio.2024.106063.
317. Inchingolo F, Inchingolo AD, Latini G, Trilli I, Ferrante L, Nardelli P, Malcangi G, Inchingolo AM, Mancini A, Palermo A, Dipalma G. The Role of Curcumin in Oral Health and Diseases: A Systematic Review. Antioxidants (Basel). 2024 May 28;13(6):660. doi: 10.3390/antiox13060660.
318. Raghava KV, Sistla KP, Narayan SJ, Yadalam U, Bose A, Mitra K. Efficacy of Curcumin as an Adjunct to Scaling and Root Planing in Chronic Periodontitis Patients: A Randomized Controlled Clinical Trial. J Contemp Dent Pract. 2019 Jul 1;20(7):842-846. PMID: 31597806.
319. Kaur H, Grover V, Malhotra R, Gupta M. Evaluation of Curcumin Gel as Adjunct to Scaling & Root Planing in Management of Periodontitis- Randomized Clinical & Biochemical Investigation. Infect Disord Drug Targets. 2019;19(2):171-178. doi: 10.2174/1871526518666180601073422.

320. Terby S, Shereef M, Ramanarayanan V, Balakrishnan B. The effect of curcumin as an adjunct in the treatment of chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Saudi Dent J*. 2021 Nov;33(7):375-385. doi: 10.1016/j.sdentj.2021.07.008.
321. Wendorff-Tobolla L.M., Wolgin M., Wagner G., Klerings I., Dvornyk A., Kielbassa A.M. A Systematic Review and Meta-Analysis on the Efficacy of Locally Delivered Adjunctive Curcumin (*Curcuma longa* L.) in the Treatment of Periodontitis. *Biomedicines*. 2023; 11:481.doi:10.3390/biomedicines11020481.
322. Zhang Y, Huang L, Zhang J, De Souza Rastelli AN, Yang J, Deng D. Anti-Inflammatory Efficacy of Curcumin as an Adjunct to Non-Surgical Periodontal Treatment: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Pharmacol*. 2022 Jan 24;13:808460. doi: 10.3389/fphar.2022.808460.
323. Wong RM, Ng SK, Corbet EF, Keung Leung W. Non-surgical periodontal therapy improves oral health-related quality of life. *J Clin Periodontol*. 2012 Jan;39(1):53-61. doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01797.x.
324. Taleghani F, Rezvani G, Birjandi M, Valizadeh M. Impact of green tea intake on clinical improvement in chronic periodontitis: A randomized clinical trial. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*. 2018 Nov;119(5):365-368. doi: 10.1016/j.jormas.2018.04.010.
325. Matuliene G, Pjetursson BE, Salvi GE, Schmidlin K, Brägger U, Zwahlen M, Lang NP. Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: results after 11 years of maintenance. *J Clin Periodontol*. 2008 Aug;35(8):685-95. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01245.x.
326. Alivernini S, Gremese E, McSharry C, Tolusso B, Ferraccioli G, McInnes IB, Kurowska-Stolarska M. MicroRNA-155-at the Critical Interface of Innate and Adaptive Immunity in Arthritis. *Front Immunol*. 2018 Jan 5;8:1932. doi: 10.3389/fimmu.2017.01932.
327. Skrypnyk M, Spahr A, Berkovsky S, Yatsenko T, Xu C, Zuieva O, et al. Chronic stress and the IL-10-mediated immunoregulatory loop in the pathogenesis

- of periodontitis. *Clin Sci (Lond)*. 2025 Nov 25;139(22):CS20256843. doi: 10.1042/CS20256843
328. Pawłaszek T, Grabarek BO. Genetic and Molecular Insights into Transforming Growth Factor-Beta Signaling in Periodontitis: A Systematic Review. *Genes (Basel)*. 2025 Oct 1;16(10):1165. doi: 10.3390/genes16101165.
 329. Cebesoy EI, Altaca M, Kocak-Oztug NA, Bingül I, Cifcibasi E. Associations between interleukin-10, -12, and -18 and periodontal health and disease: a cross-sectional study. *Clin Oral Investig*. 2024 Jul 31;28(8):458. doi: 10.1007/s00784-024-05843-8.
 330. Kong W, Yang H, He L, Zhao JJ, Coppola D, Dalton WS, Cheng JQ. MicroRNA-155 is regulated by the transforming growth factor beta/Smad pathway and contributes to epithelial cell plasticity by targeting RhoA. *Mol Cell Biol*. 2008 Nov;28(22):6773-84. doi: 10.1128/MCB.00941-08.
 331. Rhee KH, Yang SA, Pyo MC, Lim JM, Lee KW. MiR-155-5p Elevated by Ochratoxin A Induces Intestinal Fibrosis and Epithelial-to-Mesenchymal Transition through TGF- β Regulated Signaling Pathway In Vitro and In Vivo. *Toxins (Basel)*. 2023 Jul 22;15(7):473. doi: 10.3390/toxins15070473.
 332. Qin W, Chung AC, Huang XR, Meng XM, Hui DS, Yu CM, et al. TGF- β /Smad3 signaling promotes renal fibrosis by inhibiting miR-29. *J Am Soc Nephrol*. 2011 Aug;22(8):1462-74. doi: 10.1681/ASN.2010121308.
 333. Wu Y, Zhang Z, Chen Z, Fu C, Huang L, Wang J, et al. MicroRNA-29b suppresses TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition in renal interstitium of spontaneously hypertensive rats. *Chin Med J (Engl)*. 2022 Apr 5;135(7):857-859. doi: 10.1097/CM9.0000000000001922.
 334. Ma F, Liu F, Ding L, You M, Yue H, Zhou Y, Hou Y. Anti-inflammatory effects of curcumin are associated with down regulating microRNA-155 in LPS-treated macrophages and mice. *Pharm Biol*. 2017 Dec;55(1):1263-1273. doi: 10.1080/13880209.2017.1297838.
 335. Quintanilha BJ, Reis BZ, Duarte GBS, Cozzolino SMF, Rogero MM. Nutrimiromics: Role of microRNAs and Nutrition in Modulating Inflammation

- and Chronic Diseases. *Nutrients*. 2017 Oct 27;9(11):1168. doi: 10.3390/nu9111168.
336. Zhou H, Chen JX, Yang CS, Yang MQ, Deng Y, Wang H. Gene regulation mediated by microRNAs in response to green tea polyphenol EGCG in mouse lung cancer. *BMC Genomics*. 2014;15 Suppl 11(Suppl 11):S3. doi: 10.1186/1471-2164-15-S11-S3.
 337. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*. 2009 Jan 23;136(2):215-33. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.002.
 338. O'Connell RM, Rao DS, Baltimore D. microRNA regulation of inflammatory responses. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:295-312. doi: 10.1146/annurev-immunol-020711-075013.
 339. Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*. 2007 Jun;9(6):654-9. doi: 10.1038/ncb1596.
 340. Komatsu S, Kitai H, Suzuki HI. Network Regulation of microRNA Biogenesis and Target Interaction. *Cells*. 2023 Jan 13;12(2):306. doi: 10.3390/cells12020306.
 341. Choudhry H, Catto JW. Epigenetic regulation of microRNA expression in cancer. *Methods Mol Biol*. 2011;676:165-84. doi: 10.1007/978-1-60761-863-8_12.
 342. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014 Aug;15(8):509-24. doi: 10.1038/nrm3838.
 343. Salmena L, Poliseno L, Tay Y, Kats L, Pandolfi PP. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language? *Cell*. 2011 Aug 5;146(3):353-8. doi: 10.1016/j.cell.2011.07.014.
 344. Thorbert-Mros S, Larsson L, Berglundh T. Cellular composition of long-standing gingivitis and periodontitis lesions. *J Periodont Res* 2015; 50: 535–543.
- © 2014 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd.

345. Kinane DF, Bartold PM. Clinical relevance of the host responses of periodontitis. *Periodontol* 2000. 2007;43:278-93. doi: 10.1111/j.1600-0757.2006.00169.x.
346. Koss MA, Castro CE, Carino S, López ME. Histopathologic and histomorphometric studies and determination of IL-8 in patients with periodontal disease. *J Indian Soc Periodontol*. 2014 Mar;18(2):145-9. doi: 10.4103/0972-124X.131307.
347. Kaïdashev I. NF-κB activation as a molecular basis of pathological process by metabolic syndrome. *Fiziologichnyj Zhurnal*. 2012;58(1):93–100. DOI: 10.15407/fz58.01.093.
348. Весніна Л.Е., Шликова О.А., Ізмайлова О.В., Кайдашев І.П. Особливості NF-κB-опосередкованої сигнальної трансдукції та розвиток системного запалення у пацієнтів із захворюваннями внутрішніх органів. *Проблеми екології та медицини*. 2015;19(3):23–30.