

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlu de manuscris
CZU: 616.314.17-008.1+615.83

PÎRGARI ANDREI

**EFFECTUL OXIGENULUI ACTIV ÎN FORMA SA ALOTROPĂ
ÎN TRATAMENTUL COMPLEX AL PARODONTITELOR
MARGINALE**

323.01. STOMATOLOGIE

Teză de doctor în științe medicale

Conducător științific:

Nicolau Gheorghe
dr. hab. șt. med., profesor universitar

Autorul:

Pîrgari Andrei
absolvent al doctoratului

Chișinău, 2017

© Pîrgari Andrei, 2017

Acest studiu este dedicat tatălui meu, Boris Pîrgari, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, care a adus Ozonoterapia în Republica Moldova, fondând Asociația de Ozonoterapie din Moldova în anul 2002.

Aș vrea să mulțumesc tuturor celor care m-au susținut în procesul de lucru la acest studiu, mulțumiri special se aduc, Dlui Gheorghe Nicolau dr. hab. șt. med. profesor universitar, soției și familiei mele și tuturor pacienților mei.

CUPRINS

PAGINA PRIVIND DREPTURILE DE AUTOR	2
ADNOTARE (limba română, rusă, engleză)	6
LISTA ABREVIERILOR	9
 INTRODUCERE	 10
 1. MICROBIOCENOZA PARODONTITELOR MARGINALE. EFECTELE BIOLOGICE ALE OZONULUI MEDICAL	 18
1.1 Microbiocenoza parodontitelor marginale	18
1.2 Proprietățile fizico-chimice și efectele biologice ale oxigenului activ în forma sa alotropă	22
1.3 Mecanismul de acțiune al ozonului medical	26
1.4 Utilizarea ozonului medical în stomatologie	43
1.5 Concluzii la capitolul 1	45
2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE	47
2.1 Metodologia de efectuare a studiului	47
2.2 Criteriile de selectare a pacienților incluși în studiu	52
2.3 Metode de investigare a pacienților	55
2.4 Metodele tratamentului complex al parodontitelor marginale cronice	73
2.5 Concluzii la capitolul 2	83
3. MODALITĂȚILE DE EVALUARE COMPARATIVĂ FOLOSITE PENTRU ARGUMENTAREA PATOGENICĂ A UTILIZĂRII OZONULUI MEDICAL	85
3.1 Evaluarea comparativă a statusului parodontal în baza înregistrării indicilor clinici și întocmirii fișei parodontale	85
3.2 Evaluarea radiografică a modificărilor parodontale	88
3.3 Evaluarea microbiocenozei	90
3.4 Evaluarea comparativă a valorilor nivelului sangvin al enzimei sistemului antioxidant – superoxid dismutaza (SOD)	92
3.5 Evaluarea modificărilor indicilor microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal	94
3.6 Concluzii la capitolul 3	98

4. PARTICULARITĂȚILE FACTORILOR PATOGENI ÎN BOALA PARODONTALĂ. ANALIZA COMPARATIVĂ A REZULTATELOR	
OBȚINUTE	99
4.1 Particularitățile factorilor patogeni în boala parodontală	99
4.2 Analiza comparativă a valorilor medii ale indicelui PBI	115
4.3 Analiza comparativă a cantității totale de germeni asociați parodontitei.	115
4.4 Analiza comparativă a valorilor nivelului sangvin al enzimei sistemului antioxidant – superoxid dismutaza (SOD)	117
4.5 Analiza comparativă a modificărilor indicilor microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal	119
4.6 Cazuri clinice	122
4.7 Concluzii la capitolul 4.	126
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI PRACTICE.	127
BIBLOGRAFIE.	130
ANEXE	147
Anexa 1. Formular de stabilire a cantității relative de germeni identificați în probă	147
Anexa 2. Formular de analiză al LDF - gramelor	148
Anexa 3. Algoritmul de tratament complex al PMC grave.	149
Anexa 4. Brevete de invenție și certificate de inovator.	150
Anexa 5. Acte de implementare în practică	156
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII	159
CV-ul AUTORULUI	160

ADNOTARE

Pîrgari Andrei

„Efectul oxigenului activ în forma sa alotropă în tratamentul complex al parodontitelor marginale”.

Teză de doctor în științe medicale, Chișinău, 2017.

Structura tezei: Teza este expusă pe 162 pagini de text imprimat, este compartimentată clasic: lista abrevierilor, introducere, 4 capitole, concluzii generale și recomandări practice, bibliografie din 273 titluri, 79 pagini de text de bază, include 36 figuri, 8 tabele, 9 formule și 5 anexe. Rezultatele obținute sunt publicate în 6 lucrări științifice, au fost obținute 4 brevete de invenție și 2 certificate de inovator.

Cuvintele-cheie: parodontită marginală cronică, ozon medical, autohemoterapie majoră (AHTM) testul micro-IDent®plus, superoxid dismutaza (SOD), fluxmetrie laser-Doppler (LDF).

Domeniul de studiu: Stomatologie, parodontologie.

Scopul lucrării: Argumentarea patogenică a utilizării oxigenului activ în forma sa alotropă în tratamentul complex al parodontitelor marginale cronice grave (PMC grave).

Obiectivele studiului: Elaborarea și utilizarea metodei de administrare a ozonului medical în țesuturile parodontale. Evaluarea microbiocenozei pungii parodontale (PPr) la pacienții cu PMC gravă, utilizând metoda de tratament propusă în raport cu tratamentul clasic nechirurgical. Evaluarea nivelului sangvin al enzimei sistemului AO – superoxid dismutaza (SOD), la pacienții cu PMC gravă, utilizând metoda de tratament propusă în raport cu tratamentul clasic nechirurgical. Studiul microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal prin metoda fluxmetriei laser-Doppler (LDF), la pacienții cu PMC gravă, utilizând metoda de tratament propusă în raport cu tratamentul clasic nechirurgical. Elaborarea unui algoritm terapeutic de aplicare a ozonului medical în tratamentul complex al PMC grave.

Noutatea științifică a studiului: Au fost elaborate și utilizate în practică mai multe metode eficiente de aplicare a ozonului medical în tratamentul complex al PMC grave și studiate particularitățile acțiunii ozonului medical asupra microbiocenozei PPr și microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal. A fost efectuată analiza în dinamica a nivelului sangvin al enzimei sistemului AO - superoxid dismutaza (SOD) la pacienții cu PMC gravă și demonstrată eficiența modulării statusului antioxidant cu ozon medical, aplicat sistemic și local. A fost propusă o modalitate nouă de aplicare a sondei laser-Doppler, în zona de gingie fixă, pentru înregistrarea LDF- grafiilor în evaluarea microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal. A fost creat un algoritm nou de tratament complex al PMC grave și demonstrată eficiența complementării tratamentului parodontal clasic nechirurgical cu ozon medical, aplicat sistemic și local la pacienții cu PMC gravă, argumentată în baza cercetării metodelor clinice, paraclinice și funcționale.

Problema științifică soluționată: Fundamentarea științifică a aplicării ozonului medical în stomatologie și elaborarea unui algoritm nou de tratament complex al PMC grave, prin aplicarea sistemică și topică a ozonului medical.

Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a studiului: S-au extins și consolidat cunoștințele teoretice asupra mecanismului de acțiune sistemică și topică a ozonului medical, precum și asupra modalităților de aplicare al lui în stomatologia clinică. Rezultatele obținute în studiu creează un sprijin consistent din punct de vedere teoretic în favoarea unei abordări multidisciplinare a bolii parodontale.

Implementarea rezultatelor științifice: Rezultatele investigațiilor au fost implementate la clinica polifuncțională S.R.L. “GrandisMedozon” (act nr.3, din 15.12.2011); la I.M.S.P. Clinica Universitară Stomatologică a USMF Nicolae Testemițanu (act nr.4, din 26.10.2015); la I.M.S.P. Policlinica Stomatologică Republicană (act nr. 5, din 06.02.2016).

ANNOTATION

Pîrgari Andrei

„Effect of the active oxygen in its allotrope form in the complex treatment of marginal periodontitis”.

Thesis of the PhD candidate, Chisinau, 2017.

Structure of the thesis: The thesis consists of 162 typed pages, comprises the following chapters: List of acronyms; Introduction; 4 Chapters; General Conclusions and Practical Recommendations; Bibliography consisting of 273 titles; 79 pages of main text; includes 36 figures, 8 tables, 9 formulas and 5 annexes. The obtained results have been published in 6 scientific publications, 4 patents and 2 certificates for innovation have been obtained.

Key words: marginal periodontitis, medical ozone, major autohemotherapy (MAHT), micro-IDent® plus test, superoxide dismutase (SOD), Laser-Doppler flowmetry (LDF).

Research field: Dentistry, periodontology.

Aim of the research: the pathogenic argumentation of the use of active oxygen in its allotrope form in the complex treatment of severe chronic marginal periodontitis (severe CMP).

Objectives of the research: to develop and use the new method of application of the medical ozone in periodontal tissue. To evaluate the periodontal pockets microbiocenosis in patients with severe CMP by making use of the proposed treatment method compared to the classical non-surgical treatment. To evaluate the blood level of the antioxidant enzyme – superoxide dismutase (SOD) in patients with severe CMP by using the proposed treatment method compared to the classical non-surgical treatment. To examine the capillary blood micro-circulation in periodontal tissue through the Laser-Doppler flowmetry (LDF) in patients with severe CMP by using the proposed treatment method compared to the classical non-surgical treatment. To develop a therapeutic protocol for using medical ozone in the complex treatment of severe CMP.

The scientific novelty of the research: There have been developed and applied in practice several efficient methods of application of medical ozone in the complex treatment of severe CMP and the peculiarities of effects of the medical ozone on the microbiocenosis of periodontal pockets and blood microcirculation in the capillary blood microcirculation within the periodontal tissue. As a novelty, the dynamic analysis of the blood level of the superoxide dismutase enzyme (SOD) in patients with severe CMP has been done and the effectiveness of modulation with medical ozone of the oxidation status has been proven, which has been applied systemically and locally. A new method of application of the Laser-Doppler probe has been proposed, in the region of fixed gum in order to record the LDF-graphs in the evaluation of the capillary blood microcirculation within periodontal tissue. A new protocol for the complex of severe CMP has been developed and has proven the effectiveness of complementing the classical non-surgical periodontal treatment with medical ozone, applied systemically and locally in patients with severe CMP, proved based on clinical, paraclinical and functional research methods.

Scientific problem solved: Scientific substantiation of application of medical ozone in dentistry and development of a new algorithm for the complex treatment of severe CMP through systemic and topical application of medical ozone.

Theoretical and practical value of the study: Expanded and strengthened theoretical knowledge on the mechanism of systemic and topical effects of medical ozone, as well as on the modalities of its application in clinical dentistry. The results obtained in the study create strong theoretical support in favor of a multidisciplinary approach to periodontal disease.

Implementation of scientific results: The results of investigations have been implemented at the multifunctional clinic "Grandismedozon" (Act No. 3 of 15.12.2011); the I.M.S.P. Dental Clinic of Medical University Nicolae Testemitanu (Act No. 4 of 10.26.2015); the I.M.S.P. Republican Dental Polyclinic (Act No. 5 of 02.06.2016).

АННОТАЦИЯ

Пыргарь Андрей

"Влияние активного кислорода в своей аллотропной форме в комплексном лечении маргинального пародонтита"

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, Кишинев, 2017.

Состав диссертации: Диссертация представлена на 162 страницах, в классическом стиле и включает: введение, 4 глав, выводы, рекомендации, список литературы – 273 источников, 79 страниц основного текста, 36 рисунков 8 таблиц, 9 формул и 5 приложений. Результаты исследования опубликованы в 6 научных работах, получено 4 свидетельства на изобретение.

Ключевые слова: хронический периодонтит, медицинский озон, озонотерапия, тест micro-IDent® plus, супероксиддисмутаза (СОД), лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ).

Область исследования: Стоматология, пародонтология.

Цель работы: патогеническое обоснование использования активного кислорода в своей аллотропной форме в комплексном лечении хронического маргинального пародонтита, тяжелой степени (ХМП тяжелой степени).

Цели исследования: Разработка и использование метода введения медицинского озона в ткани пародонта. Оценка микробиоценоза пародонтальных карманов пациентов с ХМП тяжелой степени с использованием предлагаемого метода лечения по сравнению с классическим безоперационным методом. Оценка уровня фермента – супероксид дисмутаза (СОД) в крови у пациентов с ХМП тяжелой степени с использованием предлагаемого метода лечения по сравнению с классическим безоперационным методом. Изучение состояния микроциркуляции в тканях пародонта методом ЛДФ у пациентов с ХМП тяжелой степени с использованием предлагаемого метода лечения по сравнению с классическим безоперационным методом. Разработка терапевтического алгоритма для применения медицинского озона в комплексном лечении ХМП тяжелой степени.

Научная новизна исследования: Были разработаны и используются на практике более эффективные методы применения медицинского озона в комплексном лечении ХМП тяжелой степени и изучены особенности действия медицинского озона на микробиоценоз пародонтального кармана и на микроциркуляцию крови в тканях пародонта. Был проведен и научно обоснован лабораторными исследованиями анализ изменения уровня фермента СОД в крови, в динамике, у пациентов с ХМП тяжелой степени и доказана эффективность модуляции антиоксидантного статуса путем системного и местного применения медицинского озона. Впервые был предложен и разработан новый способ установки ЛДФ зонда в полость рта для записи ЛДФ - грамм при оценке состояния микроциркуляции в тканях пародонта. Создан новый алгоритм для комплексного лечения ХМП тяжелой степени основанный на клинических, лабораторных и функциональных методов исследования и доказана эффективность считания классического безоперационного метода лечения с медицинским озоном применяемого системно и местно в лечении пациентов с ХМП тяжелой степени.

Решенная научная проблема: Научное обоснование применения медицинского озона в стоматологии и разработка нового алгоритма для комплексного лечения ХМП тяжелой степени путем системного и местного применения медицинского озона.

Теоретическая и практическая значимость исследования: Укрепились и существенно дополнились теоретические знания о механизме действия системного и местного применение медицинского озона, а также расширились способы применения озона в клинической стоматологии. Результаты, полученные в исследовании, создает сильную теоретическую поддержку в пользу междисциплинарного подхода к болезни периодонта.

Внедрение научных результатов: Результаты исследований были внедрены в многофункциональной клинике "Grandismedozon" (акт № 3 от 15.12.2011); I.M.S.P. Стоматологическая Клиника Медицинского Университета Николая Тестемицану (акт № 4 10.26.2015); I.M.S.P. Республиканская Стоматологическая Поликлиника (акт № 5 от 02.06.2016.).

LISTA ABREVIERILOR

AGP - acizii grași polinesaturați (Polyunsaturated fatty acids (PUFAs))	NADPH - nicotinamid adenin dinucleotid fosfat, forma redusă
AO - antioxidare	OCI ⁻ - anionul hipocloric
AHTM - autohemoterapie majoră	·OH - radical hidroxil
AHTm - autohemoterapie minoră	ONOO ⁻ - peroxinitrit
ATP - adenzin trifosfat	OMS – Organizația Mondială a Sănătății
BP - boala parodontală	PBI – indice de sângerare papilară
CB - cavitatea bucală	PM - parodontită marginală
CPITN – indicele comunitar al necesarului de tratament a leziunilor parodontale	POL - produși de oxidare lipidică (Lipid Oxidation Products (LOPs))
CO – monoxid de carbon	PPr – pungă parodontală
EDTA - acid etilendiaminotetraacetic	PMC gravă - parodontită marginală cronică gravă
GSH - glutation redus	POI - indicele potențial de ozonide
GPx – glutation peroxidaza	SRO - specii reactive de oxigen (Reactive Oxygen Species (ROS))
GR – glutation reductaza	RL - radical liber
G-S-T – glutation-S-transferaza	RBC - celule roșii sanguine - eritrocite
GSSG - glutation oxidat	SRP - scalarea și planarea radiculară
G-6-PDH - glucozo-6-fosfat dehidrogenaza	SOD - superoxid dismutaza
H ₂ O ₂ - peroxid de hidrogen	SNC - sistemul nervos central
IL-1 - interleukina 1	
LDF – fluxmetrie cu laser - Doppler	
NO - monoxid de azot, oxidul nitric	
NADP - nicotinamid adenin dinucleotid fosfat, forma oxidată	

INTRODUCERE

Actualitatea temei abordate

Parodontita marginală continuă să reprezinte o problemă majoră de sănătate, fiind una dintre cele mai răspândite și frecvente boli ale corpului uman, indiferent de vârstă. Din acest motiv scopul principal în reabilitarea funcțiilor aparatului dento-maxilar (masticația, fonația și estetica) este prevenirea, diagnosticarea precoce și realizarea unui tratament complet și complex, integrând toate specialitățile stomatologice [10, 28, 50].

Cercetările noi demonstrează existența unui raport direct între sănătatea întregului organism și starea de sănătate orală [36, 142, 171]. Eliminarea tuturor infecțiilor orale, inclusiv a celor care provoacă gingivita și parodontita este esențială în restabilirea stării generale de sănătate [151], din acest punct de vedere există o necesitate urgentă în educarea continuă a societății privind importanța sănătății parodontale. Studii epidemiologice și longitudinale au demonstrat asocieri între severitatea bolii parodontale și riscul apariției afecțiunilor sistemice, cum ar fi: afecțiunile cardiovasculare și accidentele vasculare cerebrale [148, 203]. În plus, datele preliminare obținute din mai multe studii au indicat asupra existenței unor asocieri între severitatea bolii parodontale (BP) și riscul de naștere prematură a copiilor cu greutate mică la naștere (PTLBW) [97].

În patogeniza BP rolul determinant îi revine factorului microbian, prezența bacteriilor – *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis* fiind demonstrată în numeroase studii [243, 244].

În declanșarea BP, rolul esențial îi revine răspunsului imuno-inflamator al organismului, susceptibilitatea gazdei fiind o condiție obligatorie [157]. Reacția la agresiunea bacteriană este declanșată printr-un mecanism specific care este influențat de predispoziția genetică a fiecărui individ în parte [162]. De mai mulți ani cercetările imunogenetice încearcă identificarea unor asocieri între apariția BP și existența unor gene relevante, identificarea genelor bazându-se pe analiza cercetărilor asupra genotipului BP. Studiile au demonstrat că parodontita marginală este asociată cu niveluri ridicate de citokine pro-inflamatorii interleukina 1 (IL-1) și factorul de necroză tumorală alfa (TNF alfa), reglatori cheie în cadrul răspunsului imun al gazdei la infecții microbiene. IL-1 este, de asemenea, un modulator major al catabolismului matricei extracelulare și al resorbției osoase [173, 198]. Specialiștii susțin că acești markeri genetici specifici, care au fost asociați cu creșterea IL-1, sunt un indicator puternic al susceptibilității la apariția BP.

Cercetările recente au scos în evidență și rolul factorilor de risc cum ar fi formarea radicalilor

liberi [19, 135, 144, 253] ce provin din mediul interior (fagocitoză, catabolismul incomplet, producerea de energie, etc.) și din mediul exterior (stresul [166, 233], tabagismul, alcoolismul, aerul poluat, alimentele procesate, unele tipuri de medicamente etc). Alt factor de risc, la fel de important, este trauma cronică parodontală [6, 15, 40, 64].

Elementul de bază în stabilirea diagnosticului și a planului de tratament al BP rămâne examenul clinic și radiologic [207]. Succesul în tratamentul BP, înregistrat în ultimii ani, se datorează metodelor și tehnicilor noi chirurgicale, materialelor biostimulatoare și de regenerare tisulară, care permit reabilitarea funcțiilor aparatului dento-maxilar, dar nu înlătură însă în totalitate factorii cauzatori ai BP.

Până nu demult scopul parodontologiei era acela de a trata și menține pe arcadă cu orice preț unitățile dentoparodontale afectate. Astăzi tot mai mult se înrădăcează ideea păstrării și îmbunătățirii țesutului osos, cauza fiind tratamentele parodontale nereușite, unde atrofiile severe de creastă alveolară fac foarte dificilă sau chiar imposibilă aplicarea implanturilor dentare [22]. De aceea, pe lângă tratamentul chirurgical, care este doar o etapă terapeutică în tratamentul complex al BP, descoperirea și aplicarea tratamentelor sistemice care ar putea influența benefic evoluția BP este de o importanță majoră.

Astfel, în cursul ultimilor ani metodele tradiționale de tratament medicamentos a parodontitei și-au pierdut valoarea, cauza fiind numărul crescut de cazuri de rezistență microbiană la antibiotice [1], apariția tot mai frecventă a alergiilor, numărul mare de contraindicații și efecte secundare la medicamente. Toate acestea impun noi abordări și cercetări a unor metode de tratament alternative.

În acest context, terapia cu oxigen activ în forma sa alotropă (ozon medical), fiind o metodă înalt eficientă de tratament al multor afecțiuni, la baza patogenezei cărora se află sindromul inflamator de etiologie bacteriană și răspunsul imuno-inflamator al gazdei, merită să fie recunoscută drept una din cele mai simple și eficiente metode terapeutice [115]. Acțiunea ozonului medical asupra organismului uman este diversă și multidirecțională. Ozonul medical posedă efect antimicrobian, antioxidant, imunomodulator [113, 265] antihipoxic, de dezintoxicare, antiviral, antifungic, stimulează procesele metabolice și îmbunătățește proprietățile reologice ale sângelui [51, 268]. În comparație cu antibioticoterapia, ozonoterapia are un spectru mult mai larg de acțiune terapeutică și nu creează rezistență microbiană, nu produce efecte mutagene și cancerigene [125, 130, 160], mai mult de atât, în cazul existenței microflorei rezistente la antibiotice, complementarea antibioticoterapiei cu ozon medical, conduce la neutralizarea rezistenței la antibiotice și la intensificarea efectului antibioticelor [49, 78, 273].

Pentru prima dată ozonul este menționat de fizicianul olandez M. van Marum în 1785, care a observat formarea unui gaz oxidant cu miros caracteristic în timpul unor experiențe cu descărcări electrice, însă denumirea de ozon provine de la chimistul german Christian Friedrich Schonbein în 1840, care a descoperit pentru prima dată capacitatea ozonului de a reacționa cu substratul biologic. În 1857 inginerul și inventatorul german Werner von Siemens dezvoltă primul aparat tehnic de ozon, iar în anii 1880, în America apăreau primele lucrări medicale, care îi atestau eficacitatea terapeutică. Primul generator de ozon a fost patentat în 1896 de fizicianul Nicola Tesla și comercializat începând cu 1900. Ulterior el a fost primul care a ozonat uleiul de măsline pentru uz medical. În timpul primului război mondial, ozonul a fost folosit pentru dezinfecția și vindecarea plăgilor, tratarea rănilor și cangrenelor. În 1935 chirurgul Erwin Payr își prezintă publicația pe 290 de pagini despre aplicarea ozonului în chirurgie, iar dentistul elvețian E. A. Fisch a fost primul, care a folosit ozonul în stomatologie și a publicat multe lucrări despre aplicarea ozonului, și-a prezentat teza pe acest subiect în 1950. În anii următori, datorită lui Dr. J. Hansler, a fost creat primul generator de ozon medical, care împreună cu H. Wolff, autorul cărții „Medical Ozone”, fondează în 1972 Societatea Medicală de Ozonoterapie [20, 210, 234]. În 1973 a fost creată Asociația Internațională de Ozon (IOA) iar în 2005 Federația Mondială de Ozonoterapie (WFOT) [206].

Eficiența utilizării ozonului medical a fost demonstrată și argumentată în diverse afecțiuni sistemice preponderent cu caracter inflamator atât în domeniul chirurgical cât și terapeutic [43, 69, 91, 100, 262].

În practica stomatologică ozonul medical este utilizat în monoterapie sau în combinație cu alte metode de tratament [80, 168]. Astfel în chirurgia maxilo-facială se aplică pe larg soluții ozonate în calitate de remedii antiseptice pentru prelucrarea locală a leziunilor și a cavității bucale (CB) [46, 47, 182, 230, 254], fapt ce îmbunătățește considerabil convalescența postoperatorie și grăbește epitelizarea plăgii operate [187]. Ozonul are o influență benefică asupra metabolismului și procesului reparator osos [232]. S-a observat că la pacienții cu osteomielită cronică mandibulară, expunerea la ozonul medical normalizează mai rapid și complet rezistența nespecifică și imunitatea T-celulară, accelerând astfel vindecarea clinică și reducând incidența complicațiilor [96]. În tratamentul afecțiunilor parodontale, ozonul medical se aplică local, în pungile parodontale (PPr), sub formă de instilații, soluții sau uleiuri ozonate și posedă un real potențial antiinflamator, stabilit în baza analizei criteriilor obiective de diagnostic [26, 83, 92, 102, 123, 134, 188, 197, 238].

Totodată în literatura de specialitate, practic, lipsesc date despre aplicarea injectabilă a ozonului medical sub formă de gaz (infiltrații) în regiunea submucoasă a parodontiului marginal

afectat, iar date privind aplicarea uleiului ozonat semisolid lipsesc cu desăvârșire.

Prin urmare, aspectele utilizării ozonului medical în parodontologia clinică necesită o studiere mai aprofundată.

Scopul studiului

Argumentarea patogenică a utilizării oxigenului activ în forma sa alotropă în tratamentul complex al parodontitelor marginale cronice grave (PMC gravă).

Obiectivele studiului

1. Evaluarea statusului parodontal la pacienții cu PMC gravă, utilizând metoda de tratament propusă în raport cu tratamentul clasic nechirurgical.
2. Evaluarea microbiocenozei PPr la pacienții cu PMC gravă, utilizând metoda de tratament propusă în raport cu tratamentul clasic nechirurgical.
3. Evaluarea nivelului sangvin al enzimei sistemului antioxidant (AO) – superoxid dismutaza (SOD), la pacienții cu PMC gravă, utilizând metoda de tratament propusă în raport cu tratamentul clasic nechirurgical.
4. Studiul microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal prin metoda fluxmetriei laser-Doppler (LDF), la pacienții cu PMC gravă, utilizând metoda de tratament propusă în raport cu tratamentul clasic nechirurgical.
5. Elaborarea unui algoritm terapeutic de aplicare a ozonului medical în tratamentul complex al PMC grave.

Metodologia cercetării științifice

Au fost utilizate modalități complexe de cercetare și analiză comparativă a surselor bibliografice naționale și internaționale cu privire la etiopatogenia parodontitelor marginale cronice, precum și examene clinice amănunțite, examene paraclinice și funcționale moderne care au permis stabilirea unui algoritm de diagnostic și plan de tratament. Procesul de cercetare a inclus evaluarea metodei de tratament propuse în raport cu tratamentul clasic nechirurgical, prin aplicarea metodelor de cercetare analitice, statistice și matematice. Studiul a cuprins 2 loturi de pacienți, loturile fiind similare.

Noutatea științifică a studiului

1. A fost elaborată și utilizată în practică o metodă eficientă de aplicare a ozonului medical în formă de infiltrație submucoasă în cavitatea bucală, în tratamentul complex al PMC grave, argumentată în baza cercetării metodelor clinice, paraclinice și funcționale.

2. A fost elaborată și utilizată în practică o metodă eficientă de aplicare a uleiului ozonat semisolid în tratamentul complex al PMC grave, argumentată clinic în baza cercetării metodelor clinice și datelor microbiologice.
3. A fost elaborată și utilizată în practică o metodă eficientă de aplicare a ozonului medical, în tratamentul diverselor afecțiuni micotice asociate cu PMC gravă, argumentată în baza cercetării metodelor clinice și paraclinice.
4. În premieră a fost efectuată analiza în dinamica a nivelului sangvin al enzimei sistemului AO - superoxid dismutaza (SOD) la pacienții cu PMC gravă și demonstrată eficiența modulării statusului antioxidant cu ozon medical, aplicat sistemic și local, argumentată în baza investigațiilor paraclinice de laborator.
5. Au fost studiate particularitățile acțiunii ozonului medical asupra microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal la pacienții cu PMC gravă.
6. A fost propusă o modalitate nouă de aplicare a sondei laser-Doppler, în zona de gingie fixă, pentru înregistrarea LDF-grafiilor în evaluarea microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal.
7. A fost creat un algoritm nou de tratament complex al PMC grave și demonstrată eficiența complementării tratamentului parodontal clasic nechirurgical cu ozon medical, aplicat sistemic și topic la pacienții cu PMC gravă.

Problema științifică soluționată

Fundamentarea științifică a aplicării ozonului medical în stomatologie și elaborarea unui algoritm nou de tratament complex al PMC grave, prin aplicarea sistemică și topică a ozonului medical, argumentată în baza cercetării metodelor clinice, paraclinice și funcționale.

Semnificația teoretică

Rezultatele obținute în studiu constituie un fundament solid, din punct de vedere teoretic, în favoarea unei abordări multidisciplinare a bolii parodontale. S-au extins și consolidat cunoștințele teoretice asupra mecanismului de acțiune sistemică și topică a ozonului medical, precum și asupra modalităților de aplicare a lui în parodontologia clinică. Ozonul medical, ca substanță biologică activă, prezintă o semnificație teoretică importantă în vederea reducerii proceselor degenerative, prin capacitatea de restabilire a sistemului de oxido-reducere, modulare a imunității și activare a metabolismului eritocitar. În baza acestui studiu s-a elaborat și utilizat în practică un algoritm nou de tratament complex al PMC grave.

Valoarea aplicativă a studiului

Utilizarea în practică a metodei de aplicare sistemică și topică a ozonului medical în tratamentul complex al PMC grave, permite micșorarea considerabilă a contaminării bacteriene în pungile parodontale și diminuarea rapidă a fenomenelor inflamatorii în țesutul parodontal ceea ce conduce la menținerea de durată mai mare a stării de igiena orală. Totodată modularea nivelului sangvin al superoxid dismutazei reduce stresul oxidativ, implicat în patogeneza parodontitei marginale cronice grave și echilibrează homeostazia redox, iar nivelul microcirculației ce prezintă tulburări hemodinamice grave, ajunge la valori ce caracterizează restabilirea microhemodinamicii la nivelul țesutului parodontal, ceea ce stimulează procesele reparatorii și reduce timpul de vindecare.

Implementarea rezultatelor științifice

Rezultatele investigațiilor au fost implementate la clinica polifuncțională S.R.L. “GrandisMedozon” (act nr.3, din 15.12.2011); la I.M.S.P. Clinica Universitară Stomatologică a USMF Nicolae Testemițanu (act nr.4, din 26.10.2015); la I.M.S.P. Policlinica Stomatologică Republicană (act nr. 5, din 06.02.2016).

Aprobarea rezultatelor studiului

Rezultatele și concluziile principale obținute la tema tezei au fost comunicate și discutate în cadrul:

- Congresului Național de Ozonoterapie, organizat de către Societatea Științifică Română de Oxigen Ozonoterapie, Universitatea Titu Maiorescu, București, România, tema:
” Efectul oxygen-ozon terapiei în tratamentul complex al parodontitelor marginale cronice profunde” (București, 2016).
- Congresului Național cu participare internațională organizat de Asociația Stomatologilor din Republica Moldova USMF ”Nicolae Testemițanu”, tema:
”Ozonul medical – o nouă abordare în tratamentul complex al parodontitelor marginale cronice” (Chișinău, 2016).

Rezultatele tezei au fost discutate și aprobate la ședința Catedrei de odontologie, parodontologie și patologia orală a USMF „Nicolae Testemițanu” din 27.04.2016 (procesul verbal nr. 9) și la ședința Seminarului Științific de Profil „ Stomatologie” a USMF „Nicolae Testemițanu” din 24.05.2016 (procesul verbal nr. 3).

Publicații la temă

În baza materialelor tezei au fost publicate, în reviste recenzate: 5 lucrări fără coautori și 1 cu coautor, ținute 2 rapoarte la conferințe și seminare științifice naționale și internaționale, obținute 4 brevete de invenție și 2 certificate de inovator.

Sumarul compartimentelor tezei

Teza conține următoarele compartimente: Adnotare în limbile română, engleză și rusă; Lista abrevierilor; Introducere; 4 Capitole; Concluzii generale și Recomandări practice, referințe în număr de 273 titluri și 5 anexe.

Volumul și structura tezei

Volumul total al tezei este de 162 de pagini, inclusiv 8 tabele, 36 de figuri și 9 formule.

Introducerea cuprinde: actualitatea temei abordate, argumentarea necesității și importanței studiului științific; scopul și obiectivele studiului, metodologia cercetării științifice, noutatea științifică a studiului, problema științifică soluționată, semnificația teoretică, valoarea aplicativă a studiului, implementarea rezultatelor științifice, aprobarea rezultatelor studiului, publicații la temă.

Capitolul 1. Microbiocenoza parodontitelor marginale. Efectele biologice ale ozonului medical

Acest capitol include: stadiul actual al cunoașterii la tema tezei, care expune sinteza a 273 surse bibliografice, compartimentată în 5 subcapitole. Astfel în capitolul respectiv sunt reflectate: microbiocenoza parodontitelor marginale, proprietățile fizico-chimice și efectele biologice ale oxigenului activ în forma sa alotropă, mecanismul de acțiune al ozonului medical și utilizarea ozonului medical în stomatologie. Totodată sunt elucidate mecanismele de acțiune al ozonului medical și contraindicațiile aplicării lui.

Capitolul 2. Materiale și metode de cercetare

Capitolul include metodologia de efectuare a studiului, care cuprinde metode de cercetare analitice, statistice și matematice. Primordial a fost utilizată metodologia cercetării clinico-statistice și matematico-statistice asupra particularităților clinice de manifestare și a metodelor de tratament. De asemenea în capitolul dat sunt descrise criteriile de selectare a pacienților incluși în studiu precum și metode de investigare clinice și complementare: statusul parodontal,

identificarea germenilor asociați parodontitei utilizând testul micro – IDent® plus 11, evaluarea nivelului sangvin al enzimei sistemului AO - superoxid dismutaza (SOD) și evaluarea microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal prin metoda fluxmetriei laser-Doppler (LDF). Tot în acest capitol au fost descrise metodele tratamentului complex al parodontitelor marginale cronice.

Capitolul 3. Modalitățile de evaluare comparativă folosite pentru argumentarea patogenică a utilizării ozonului medical

În acest capitol sunt descrise modalitățile de evaluare comparativă a particularităților statusului parodontal, a radiografiilor, a microbiocenozei, a valorilor superoxid dismutazei și a modificărilor microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal.

Capitolul 4. Particularitățile factorilor patogeni în boala parodontală. Analiza comparativă a rezultatelor obținute

Capitolul respectiv include: sinteza particularităților factorilor cauzatori ai BP, discutarea lor și a tuturor metodelor terapeutice utilizate prin prisma literaturii de specialitate și analiza comparativă a rezultatelor obținute. Tot în acest capitol sunt prezentate particularitățile tratamentului clasic nechirurgical și tratamentului clasic nechirurgical, complementat cu ozonoterapia sistemică și topică (cazuri clinice).

Concluzii generale sunt 7 la număr care rezumă obiectivele studiului.

Recomandări practice sunt 7 la număr, în care sunt expuse ideile pentru implementarea algoritmului nou de tratament complex al PMC grave în practică, în cadrul serviciului stomatologic specializat.

1. MICROBIOCENOZA PARODONTITELOR MARGINALE. EFECTELE BIOLOGICE ALE OZONULUI MEDICAL

1.1 Microbiocenoza parodontitelor marginale

Microflora cavității bucale (CB) în mod normal este reprezentată de diferite tipuri de microorganisme. Microbiologia afecțiunilor parodontiului este complexă, atunci când sub influența unor factori locali sau sistemici echilibrul normal între microorganismele autohtone și alohtone se perturbă, unele bacterii din biofilmul dentar subgingival pot deveni agenți etiologici primari ai BP [23].

Factorii locali care induc perturbări funcționale în parodonțiu și îl predispun la apariția afecțiunilor inflamatorii sunt considerați ca factori de risc în crearea situațiilor clinice de tranziție a patologiei în parodontită cronică marginală [57]. Aspectele clinice ale traumei cronice parodontale sunt dependente de caracterul factorului traumatizant, durata și direcția acțiunii, cât și de tipul parodontiului de înveliș [6]. Cele mai importante cauze locale traumatice sunt considerate a fi lucrările protetice neadaptate, obturații dentare incorecte, influența dăunătoare a aparatelor ortodontice incorect confecționate, rapoarte ocluzale incorecte și anomalii ocluzale [15].

Alt factor local cu un rol important în apariția afecțiunilor inflamatorii ale parodontiului este factorul bacterian. Șanțurile gingivale și PPr conțin mari cantități de bacterii de diverse specii. Multe dintre ele sunt anaerob obligatorii și se consideră că unele dintre ele declanșează procesul de îmbolnăvire acționând asupra țesuturilor parodontiului. Ele pot fi implicate în apariția afecțiunilor CB cum ar fi parodontopatiile care apar odată cu dezvoltarea disbiozei orale atunci când se încalcă echilibrul normal între microflora benefică și cea patogenă [186]. Factorii cei mai importanți în crearea simbiozei sunt: capacitatea de infectare, invazivitatea și patogenitatea [62].

Totuși patogenitatea nu este o caracteristică a microbilor, ci un posibil rezultat al interacțiunii cu organismul în anumite condiții. De menționat că, atât componenta cantitativă, cât și cea calitativă a microflorei normale a omului sănătos este destul de stabilă. Fenotipul microecologic al omului se formează sub influența particularităților genotipice și a factorilor de mediu [82]. Prin urmare, cercetările microbiologice joacă un rol important în descifrarea etiologiei diferitelor afecțiuni ale CB, în profilaxia și tratarea lor.

O atenție deosebită s-a acordat microorganismelor frecvent întâlnite *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* [226]. De obicei *Actinobacillus actinomycetemcomitans* se asociază cu parodontita agresivă localizată iar

Porphiromonas gingivalis este considerat agentul etiologic major al parodontitei cronice. Conform altor teorii, dezvoltarea parodontitei este determinată de *Actinomyces israeli*, *A. viscosus*, mai ales dacă apare sângerarea gingivală [258], de o cantitate mare de *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*, *Fusobacterium nucleatum*, speciile *Lactobacillus*, *Streptococcus anginosus*, *Veillonella parvula* și speciile de *Treponema* (au fost identificate 166 tipuri și subtipuri de bacterii în 96 de probe) [259].

În literatura de specialitate din ultimii ani a fost recunoscută existența microflorei parodontopatogene, care cuprinde, în principal, anaerobi Gram - negativi, actinomicete și grupul *Bacteroides (Prevotella)* [37], care este considerat agent etiologic al multor maladii, cum ar fi endocardita, osteomielita și periodontitele juvenile locale (PJL). S-au efectuat, de asemenea, câteva cercetări detaliate privind bacteriologia gingivitelor ulceronecrotice acute (GUNA) care, se presupunea că, sunt cauzate de fuzo-bacterii și spirochete. În cadrul altui studiu, la microscopia a 22 de frotiuri, s-a depistat o mare cantitate de *Treponema* (32%) și *Seimonas* (6%), *Bacteroides (acum Prevotella) intermedius* (24%) și *Fusobacterium spp.* (3%) [184].

Agresivitatea microflorei parodontopatogene este legată de prezența în membrana bacteriană a enzimelor proteolitice și a endotoxinelor. Cea mai mare parte dintre bacteriile situate în PPr sunt anaerobi Gram - negativi, care produc o cantitate mare de endotoxine [52]. Enzimele microbiene produc depolimerizarea glicozaminoglicanilor din masa de bază a parodontiului, ca urmare devine posibilă invazia endotoxinelor în țesutul parodontal [50, 170]. Glicozaminoglicanii au un rol important în funcția de protecție a epiteliului gingiei, în special în ceea ce privește pătrunderea infecțiilor și toxinelor în țesut [158, 270].

Studiile recente au demonstrat prezența unor complexe și asocieri specifice între bacteriile patogene parodontale care se dezvoltă simultan cu deteriorarea sănătății orale a gazdei și sunt implicate în debutul și progresia bolii. Spre exemplu, a fost raportată o asociere între *Bacteroides forsythus* și *C. rectus* în cazurile de parodontită agresivă [37]. De asemenea, primul complex, care a fost asociat cu BP este așa-numitul complex portocaliu, care constă din specii anaerobe Gr (-) cum ar fi *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *P. nigrescens* și *Fusobacterium nucleatum* [195, 227]. Odată cu cronicizarea bolii, microbiota se muta la așa-numitul complex roșu, care constă din patogeni parodontali *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella Forsythia* și *Treponema denticola*, implicați puternic în fazele active distructive ale parodontitei cronice [245].

În prezent, asocierile specific polimicrobiene patogene sunt considerate markeri ai activității afecțiunilor parodontale, însă diversă floră subgingivală complică determinarea

tipului concret de microorganism care declanșează procesul de îmbolnăvire [180].

Comunitățile complexe polimicrobiene se dezvoltă și formează un biofilm, care aderă de suprafețe biotice sau abiotice. Biofilmul dentar este compus din microcolonii sau rețele sofisticate de microorganisme, care posedă ventilație, canale de comunicare, posibilități de nutriție și traiecte de deplasare foarte bine organizate [133], care apoi secretă o substanță polimerică extracelulară lipicioasă ce ajută bacteriile să adere la suprafețe, precum și între ele [177]. Datorită secreției substanței polimerice extracelulare, biofilmul se dezvoltă devenind mai mare și căpătând o arhitectură distinctă [137], moment care corespunde transformării biofilmului în placă bacteriană matură [16].

Alături de bacterii, în placă se găsesc celule epiteliale și leucocite. Acestea sunt distribuite într-o matrice extracelulară care conține proteine, polizaharide și lipide provenite din salivă și produși de metabolism bacterian. Componenta anorganică a plăcii este reprezentată de calciu și fosfați, de proveniență salivară din lichidul gingival crevicular (GCF). Creșterea componentei anorganice duce la transformarea plăcii în tartru [11].

Acumularea excesivă de tartru dentar, indiferent de tipul de bacterii pe care îl conține prezintă un factor major în apariția afecțiunilor parodontale [180]. În tartrul dentar se localizează masa principală a microorganismelor CB, 70% din tartrul dentar constituindu-l microbi. Într-un miligram de masă uscată de tartru se conțin circa 250 de microbi [30]. Un sfert din întregul volum îl constituie substanța intermicrobiană, care este o barieră de protecție, are o consistență gelatinoasă și cuprinde componenți organici și anorganici [53]. Pe lângă calciu și fosfați componentul anorganic mai conține și o cantitate neînsemnată de sodiu, potasiu și fluor. Ca urmare a mineralizării treptate în procesul de maturare a tartrului, cantitatea totală a substanțelor neorganice crește [45]. Partea organică a tartrului constă, în principal, din polizaharide – dextrani și fructani care, pentru microorganisme, prezintă o substanță de legătură în placa dentară.

Totodată, un rol de predispoziție pentru dezvoltarea fenomenelor inflamatorii, în parodonțiu, îl joacă nu numai condițiile optime pentru apariția tartrului dentar, ci și perturbarea microcirculației cu dezvoltarea hipoxiei tisulare cronice; rolul acesteia în patogeniza afecțiunilor parodontale fiind demonstrat în numeroase studii [59, 65, 84, 94, 208]. Instalarea și progresarea stării de hipoxie conduce la acumularea de radicali liberi ceea ce determină transformarea proceselor aerobe (mai ales în metabolismul glucidelor) în procese anaerobe și drept consecință, acumularea, în special, de acid lactic și piruvic conducând la apariția acidozei metabolice în regiunea patogenă. Concomitent, se remarcă o scădere a pH-ului ce caracterizează gradul de hipoxie [33]. Răspunsul rapid la apariția

inflamației din partea enzimelor respiratorii, necesari proceselor reparatorii este brusc diminuat, fapt ce poate servi ca semn de manifestare timpurie a schimbărilor necrotice în țesut. Toate acestea creează condiții favorabile de dezvoltare a microbilor patogeni [17, 62].

Cu toate acestea, studii recente [218] au demonstrat că, pe lângă etiologia bacteriană, alți factori, cum ar fi co-infecțiile bacteriene - virale, factorii genetici, imunologici și de mediu contribuie la apariția și dezvoltarea parodontitelor [27, 39, 50, 73, 87, 88, 183, 195, 207].

Microbul, ca atare, nu constituie cauza bolii [62], doar în interacțiune cu macroorganismul el poate deveni una din cauze [73]. În afecțiunile parodonțiului, multe microorganisme potențial patogene se găsesc permanent atât în sectoarele sănătoase cât și în cele afectate, și în majoritatea cazurilor microflora plăcii dentare nu are capacitatea de a pătrunde în epiteliu și în țesutul conjunctiv adiacent [73].

Alături de predispoziția genetică individuală a pacientului, care are o influență majoră asupra severității tabloului clinic, un rol foarte important îi revine răspunsului imun al gazdei, care este implicat în modularea evoluției către distrucție tisulară sau vindecare [157, 162, 250].

De mai mulți ani cercetările imunogenetice încearcă identificarea unor asocieri între apariția BP și existența unor gene relevante. Identificarea genelor se bazează pe analiza cercetărilor asupra genotipului BP, studiile au demonstrat că parodontita este asociată cu niveluri ridicate de citokine pro-inflamatorii: interleukina 1 (IL-1), factorul de necroză tumorală alfa (TNF alfa) și prostaglandinele, reglatori cheie în cadrul răspunsului imun al gazdei la infecții microbiene. IL-1 este, de asemenea, un modulator major al catabolismului matricei extracelulare și al resorbției osoase [173, 198]. Specialiștii susțin că acești markeri imuni specifici, care au fost asociați cu creșterea IL-1, sunt un indicator puternic al susceptibilității la apariția procesului inflamator care stă la originea distrucției tisulare [67, 93, 204, 250].

Perturbarea metabolismului în țesutul osos al apofizei alveolare, provocată de factori endo- și exogeni, contribuie la dezvoltarea schimbărilor distrofice în apofiza alveolară, pe fondul cărora microorganismele își pot realiza potențialul lor agresiv [66], ceea ce favorizează apariția dezechilibrului între gradul de resorbție și apozitie a osului alveolar (creșterea vitezei de resorbție osteoclastică, scăderea activității osteoblastelor) [24, 85], conducând la intensificarea proceselor catabolice și slăbirea biosintezei, în special a bazei organice a țesuturilor parodontale, fapt ce contribuie la distrugerea tuturor elementelor acestui complex [52, 86]. La bolnavii de parodontită cronică generalizată, care prezintă

exudat purulent în PPr, mobilizarea potențialului bactericid al mononuclearilor și neutrofilelor este semnificativ redusă, fiind însoțită de intensificarea activității enzimelor de protecție antioxidantă (superoxid dismutaza și catalaza), dar care nu reușesc contracararea intensificării proceselor de peroxidare a lipidelor [71]. Schimbările ultrastructurale profunde ale celulelor plasmatiche în dinamica parodontitei cronice se află în raport direct cu gradul de gravitate a îmbolnăvirii, evidențiind rolul important al perturbărilor imunologice în cazul patologiei date [93].

Concomitent, aceste constatări fac alegerea unui tratament adecvat pentru BP mult mai dificil.

1.2 Proprietățile fizico-chimice și efectele biologice ale oxigenului activ în forma sa alotropă

Ozonul (din grecescul *ozein*, care înseamnă „a mirosi”), a doua formă (activă) alotropă a oxigenului – este un corp gazos de culoare albastruie, cu miros caracteristic; în concentrații mici e plăcut - ”miros de aer purificat și proaspăt”, în concentrații mari e înțepător și intens iritant [206].

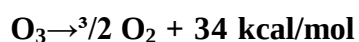
Molecula se compune din trei atomi de oxigen (O_3), are afinitate puternică pentru electron (1,9 eV) și o greutate moleculară de 48.00 g/mol. În condiții standard de temperatură și presiune ($0^\circ C$; 1atm=101,3kPa), greutatea unui litru de ozon este de 2,143g/l iar a unui litru de aer este de 1,429g/l, respectiv ozonul este mai greu decât aerul. Punctul de topire a ozonului este de minus $192,5^\circ C$ căpătând o nuanță albastru-violet închisă iar punctul de fierbere este de minus $119,9^\circ C$. Dizolvarea ozonului în apă constituie 49,4 ml/100ml ($0^\circ C$; 1atm=101,3kPa), ceea ce este de 10 ori mai mare decât a oxigenului [213]. Reacția de producere a ozonului este reversibilă:



Molecula de ozon este instabilă și se autodescompune în oxigen cu degajare de căldură. În plus viața moleculei de ozon depinde de temperatură, astfel la o temperatură de plus $20^\circ C$ concentrația ozonului scade la jumătate în 40 min., la plus $30^\circ C$ în 25 min., la minus $50^\circ C$ concentrația ozonului scade la jumătate în 3 luni [9], iar la minus $78^\circ C$, în vas din sticlă, anumite mase plastice sau metale pure, ozonul practic nu se descompune [29].

Calitatea de bază care definește specificul proprietăților fizico-chimice este:

- nivelul înalt de energie internă a moleculei de ozon și



- capacitatea puternică de oxidare; ozonul fiind al 2-lea oxidant, conform proprietăților oxidante, după fluorină și persulfat [81, 213].

Ozonul oxidează toate tipurile de metale, cu excepția aurului și platinei. El este capabil să reacționeze cu majoritatea substanțelor organice și anorganice. Termodinamic, aceste reacții pot decurge până la oxidarea deplină, adică până la formarea apei, oxizilor de carbon și oxizilor altor elemente.

Acțiunea de oxidare a ozonului se poate manifesta diferit:

- oxidare, în care participă doar un atom de oxigen din molecula de ozon;
- oxidare, în care participă toți trei atomi din molecula de ozon;
- oxidare cu crearea legăturilor dintre substanța inițială și molecula de ozon – formarea de ozonide [35].

Cu toate că ozonul are un potențial înalt de oxidare, modul lui de interacțiune este foarte selectiv. Cauza acestei selectivități o prezintă structura polară unghiulară a moleculei de ozon ($\mu = 0,49 \text{ D}$) [5, 261], mai exact polarizarea pozitivă a atomului de oxigen, care conferă întregii molecule caracter electrofil. Datorită acestei proprietăți moleculele cu densitate electronică înaltă, sunt elementele reactive cele mai preferate. Compușii cu legături duble $\text{C}=\text{C}$ reacționează imediat, fenolii și aminele libere sunt oxidate în câteva secunde, în timp ce alcoolii se oxidează în câteva ore.

Un interes aparte îl prezintă reacțiile ozonului cu moleculele organice care posedă duble și triple legături, fapt ce conduce la înțelegerea caracterului biochimic de interacțiune al ozonului cu obiectele biologice. Contactul cu aceste molecule duce la formarea diferitor complexe și compuși intermediari puțin studiați (zwitterioni (amfiioni), malozonide, ozonide ciclice), care pot fi hidrolizate, oxidate, reduse sau dezintegrate termic într-o multitudine de substanțe în special aldehyde, cetone, acizi sau alcooli (Figura 1.2.) [178].

Ozonul reacționează cu hidrocarburile nesaturate, aminele, grupele sulfhidrice și compușii aromatici. Sensibili la acțiunea ozonului, pe lângă acizii grași nesaturați, sunt și aminoacizii aromatici și peptidele, în primul rând cele care conțin grupele – SH. Produsul interacțiunii moleculei de ozon cu substraturile bio-organice este - ozonida [163].

Datorită structurii sale dipolare, are loc cicloadiția 1,3-dipolară a moleculei de ozon la legăturile nesaturate, cu formarea ozonidei primare (I), corespunzător reacției prezentată în Figura 1.1., cunoscută de asemenea sub numele de mecanismul Crigée (1953, 1975).

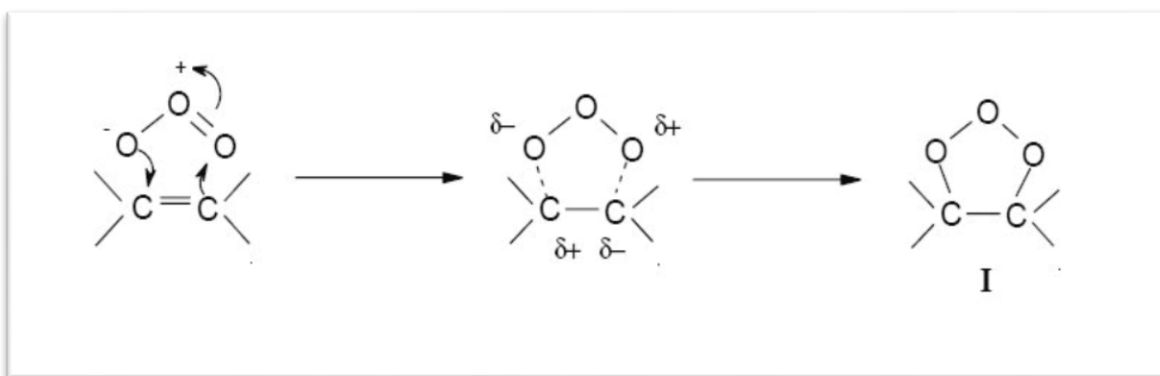


Fig. 1.1. Formarea ozonidei primare [163].

Ozonarea legăturilor aromate are loc asemănător ozonării olefinelor cu crearea ozonidelor polimere [163].

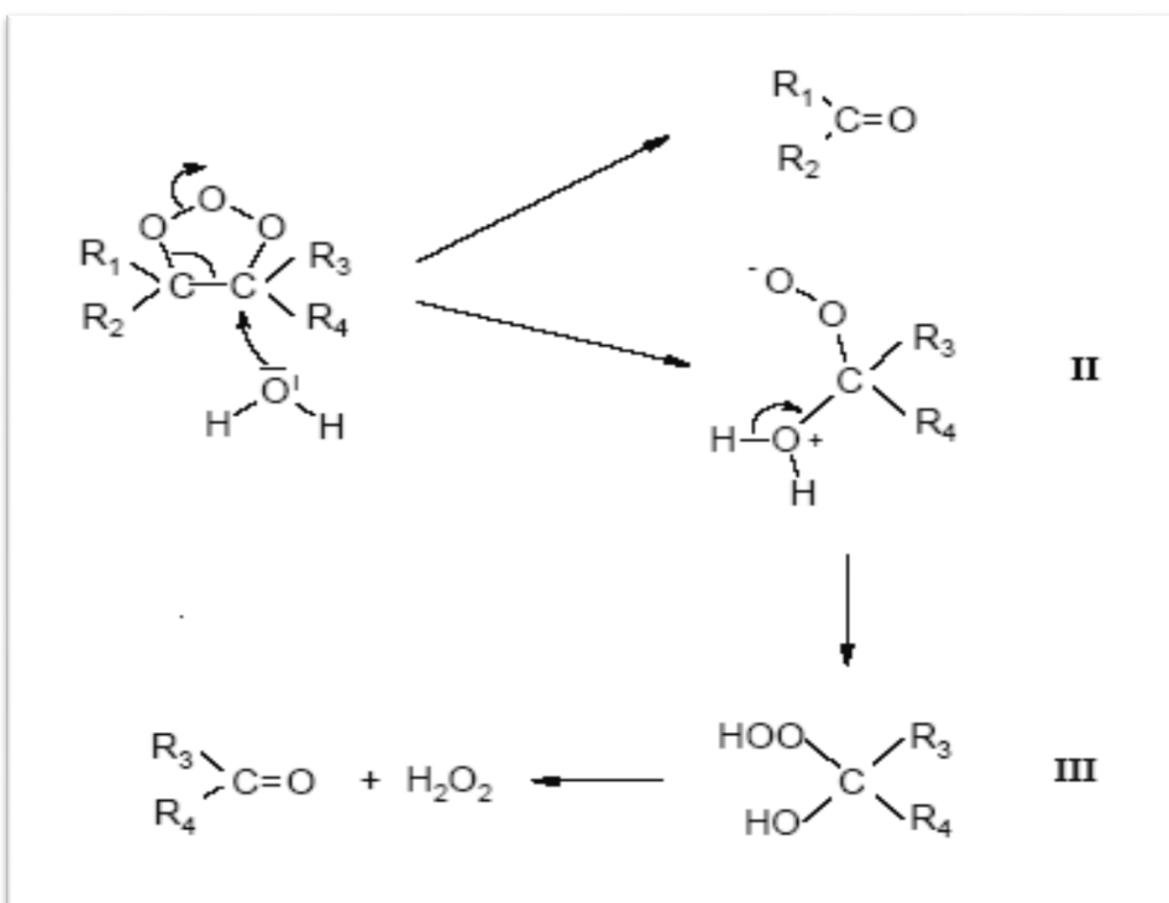


Fig. 1.2. Ozonida primară se descompune într-un compus carbonil (aldehidă sau cetonă) și un amfiion (II) ce se transformă într-un hidroxi-hidroperoxid (III), care în continuare se descompune într-un compus carbonil [163].

Ozonul poate fi toxic prin inhalare și iritant pentru ochi. Inhalarea de către om și mamifere a ozonului în concentrații mai mari duce la interacțiunea acestuia cu compușii mucoasei căilor respiratorii și distrugerea surfactantului pulmonar, deoarece el posedă o capacitate redusă antioxidantă. În investigațiile anatomopatologice tabloul caracteristic unei intoxicații cu ozon este descris în felul următor: coagularea sângelui este dereglată, plămânii sunt afectați de un număr mare de hematoame [74].

Datorită acestui fapt a fost stabilită o concentrație maximă admisă a ozonului în aerul încăperii de lucru la 0,1 ppmv inhalat timp de o oră, ceea ce este de 10 ori mai mult decât pragul olfactiv la om (0,01 ppmv) [118, 221]. Organizația Mondială a Sănătății permite munca timp de 8 ore într-o încăpăre în care concentrația de ozon este de 0,06 ppmv, ceea ce este bine perceput ca un miros destul de puternic de ozon [118].

Conversia este după cum urmează:

$$1\text{ppmv} = 1,0 \mu\text{g/ml sau } 1,0 \text{ mg/L sau } 1,0 \text{ g/m}^3$$

Ozonul medical este produs din oxigen pur (min. 99,5%) într-un generator de ozon, aparat ce conține un tub în care, printr-un proces endotermic se produc descărcări electrice de înaltă tensiune între electrozi. De fapt, ozonul medical este un amestec de oxigen și ozon ($95\%\text{O}_2$ - $5\%\text{O}_3$) [118]. Ozonul medical nu poate fi produs din aer, deoarece în prezența azotului se formează oxizi de azot toxici [120].

Ozonul medical administrat extern (pe piele, pe suprafața lezată), intern (*per os et per rectum*) și parenteral, în spectrul concentrațiilor terapeutice, nu are efect toxic asupra organismului uman.

Atunci când este utilizat în stări și afecțiuni specifice, eficacitatea terapeutică a ozonului medical este identică sau similară oriunde în lume. Utilizarea metodelor de aplicare și a dozelor necorespunzătoare a ozonului sunt cauzele cele mai frecvente de ineficacitate și de efecte adverse. Din acest motiv, societățile medicale de aplicare a ozonului au înființat protocoale de tratament ca și bază pentru standarde și ghiduri metodologice, revizuite și publicate în conformitate cu rezultatele cercetărilor recente și a experienței în domeniu din ultimii treizeci de ani [110, 120]. Acestea au fost utilizate în standardizarea aplicării, indicațiilor, concentrațiilor, dozelor și frecvenței tratamentului, bazate pe mecanismul de acțiune și farmacologie a ozonului medical.

Efectul farmacologic al ozonului medical urmează așa-zisul fenomen de hormeză, caracterizat prin efectul stimulator sau benefic al expunerii la concentrații joase la un agent

care devine toxic la concentrații mai mari [116]. Conceptul ozonului în doze mici (Low-Doze Ozone), cu stres oxidativ moderat, devine la ora actuală o strategie ideală în ozonoterapie [215].

Acțiunea ozonului medical asupra organismului uman este multiplă și multidirecțională. Ozonul medical posedă efect antalgic, antiinflamator, antiedematos, antioxidant, miorelaxant, de dezintoxicare, imunomodulator, antimicrobian, antiviral, antifungic, activează procesele metabolice celulare, stimulează metabolismul oxigenului și îmbunătățește proprietățile reologice ale sângelui [91, 100, 214].

1.3 Mecanismul de acțiune al ozonului medical

Mecanismul de acțiune al ozonului medical poate fi împărțit în două categorii majore, în dependență de modalitatea de aplicare [206]:

- aplicare topică (acțiunea bactericidă, virucidă și fungică);
- aplicare sistemică (reglarea sistemului de antioxidare celulară, eliberarea îmbunătățită de oxigen de RBC și imunomodularea prin activarea celulelor albe din sânge (WBC);

Acțiunea bacterică, virucidă și fungică a ozonului

Aplicarea topică a ozonului medical în formă gazoasă sau în formă de soluții ozonate, posedă efect antimicrobian, antiviral, antifungic precum și efect de curățare și vindecare a plăgilor. În același timp, ozonul, este mai eficient în mediu apos deoarece în urma descompunerii ozonului în apă se formează un radical hidroxil înalt reactiv. Conform studiilor microbiologice ozonul este capabil să distrugă toate bacteriile Gram-pozitive și Gram-negative cunoscute, inclusiv *P. aeruginosa*, *Legionella spp*, toți virușii lipo și hidrofilii, inclusiv virușii hepatici A, B, C, HIV, sporii și formele vegetative a tuturor fungilor patogeni cunoscuți [32, 48, 79, 126, 139, 262].

Printre cauzele efectului bactericid al ozonului cel mai des se menționează perturbarea activității membranei celulare bacteriene prin oxidarea fosfolipidelor și lipoproteinelor cu afectarea în mod direct a integrității citoplasmice. Bacteriile Gram-pozitive sunt mai sensibile la acțiunea ozonului, decât bacteriile Gram-negative, probabil datorită deosebirilor în structura membranală [119].

Atenția cercetătorilor privind efectul virucid al ozonului s-a axat pe proprietatea ozonului de a rupe legăturile multiple configurate ale moleculelor lipide. Într-adevăr, odată ce învelișul exterior lipidic al virusului este fragmentat, ADN-ul sau ARN-ul nuclear nu poate supraviețui. Virușii nu au nici o protecție împotriva stresului oxidativ, pe de altă parte,

celulele normale de mamifere și respectiv umane, posedă sisteme complexe de enzime (ex., SOD, catalaza, peroxidaza), care neutralizează efectele nefaste ale speciilor reactive de oxigen (SRO) și provocările oxidative.

Virusurile care prezintă pe lângă nucleocapsidă și un înveliș extern lipoproteic derivat din sistemul membranal al celulei gazdă (peplos sau anvelopă), se numesc virusuri anvelopate [4]. Virusurile anvelopate sunt mult mai sensibile la acțiunea ozonului, decât cele neanvelopate, anume datorită învelișului extern glico și lipoproteic, care interacționează foarte ușor cu ozonul [128, 240, 260, 267].

Deși efectele ozonului asupra lipidelor nesaturate sunt acțiuni cele mai bine elucidate biochimic, ozonul este cunoscut și pentru interacțiunea sa cu proteinele, carbohidrații și acizi nucleici. Acest lucru devine deosebit de relevant atunci când se ia în considerație inactivarea virusurilor neanvelopate cu ozon [153]. O descoperire importantă a fost evaluarea efectului antiviral al ozonului asupra culturii de limfocite infectate cu HIV – 1 [127, 128, 149, 164].

Mecanismul de inactivare a virusului imunodeficienței umane poate fi explicat prin următoarele aspecte:

- Distrucția parțială a membranei virale și pierderea proprietăților sale;
- Inactivarea enzimei reverstranscriptaza, care inhibă procesul de transcripție și translație a proteinelor virale și corespunzător reproducția virală;
- Imposibilitatea unirii virusului cu receptorii celulelor țintă [150, 161, 264, 267];

Conform datelor [118, 210], molecula electrofilă de ozon poate reacționa cu o pereche de radicali liberi ai electronilor azotului din N-acetil glucozamină disponibilă în acceptorii virali al celulelor gazdă; aceasta scade sensibilitatea celulelor față de viruși și elimină fenomenul de dependență. Mai mult decât atât, infecțiile asociate HIV s-au dovedit a fi rezistente la antibiotice dar capabile de a fi inactivate de ozonul medical.

În scopul explorării utilității ozonoterapiei în afecțiunile virale, cercetătorii [122] au examinat posibilitatea acțiunii ozonului *in vivo*, deoarece activitatea virucidă a ozonului devine nesigură atunci când virușii se află în fluide biologice, sau, chiar mai rău, atunci când aceștia sunt poziționați intracelular (hepatocite, limfocite CD4+, monocite, celulele gliale și neuronale), pentru că, în mod ironic, sistemul puternic antioxidant al celulei gazdă protejează integritatea virală.

Următoarele mecanisme pot avea o anumită relevanță:

- Un tratament prelungit ozonoterapeutic pare a fi capabil să inducă o adaptare la stresul cronic oxidativ (SCO) și prin urmare, o re-echilibrare a statusului redox celular, proces fundamental pentru inhibarea replicării HIV, VHB și VHC [138, 192, 224];
- Inducerea sintezei de citokine în sângele ozonat s-a dovedit a fi posibilă. Deși ozonul este un inductor slab, limfocitele și monocitele reinfuzate, migrând prin sistemul limfoid, pot activa alte celule care, în timp, vor conduce la o stimulare a sistemului imunitar [121];
- Ozonarea sângelui în autohemoterapie minora (AHTm), poate induce oxidarea componentelor virale libere, ceea ce ar putea reprezenta un vaccin inactivat și imunogen [121];

Terapia cu ozon cu siguranță îmbunătățește oxigenarea și metabolismul hepatic și într-adevăr întotdeauna s-a constatat că fibrinogenul și nivelele plasmatice de protrombină au tendința de a se normaliza la pacienții infectați, sugerând o îmbunătățire a sintezei proteice hepatice. În infecția cu HIV, ozonoterapia corectează hiperlipidemia și lipodistrofia dobândită care însoțesc complicațiile metabolice și cardiovasculare [174]. Celulele cu o acoperire enzimatică redusă sunt vulnerabile la invaziile virale și totodată susceptibile la oxidare și eliminare din organism, fapt ce permite înlocuirea lor ulterioară cu celule sănătoase [145].

La fungi, ozonul inhibă creșterea celulelor în anumite etape. Grupul de fungi numiți dermatofii [121] și familiile de fungi *Candida*, *Aspergillus*, *Histoplasma*, *Actinomyces*, *Cryptococcus* sunt distruse de expunerea la ozon. Pereții celulelor de fungi sunt multistratificați și sunt compuși din aproximativ 80% carbohidrați și 10% din proteine și glicoproteine. Prezența multor legături disulfurice creează posibilitatea de inactivare oxidativă cu ozon a fungilor. Pe lângă acestea, ozonul are capacitatea de a difuza prin peretele fungic în citoplasmă, perturbând astfel organele celulare.

Organismele protozoare afectate de ozon includ *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Acanthamoeba*, *Hartmonella*, și *Negleria*. Mecanismul exact prin care ozonul exercită acțiunea anti-protozoare nu a fost încă elucidat [169].

Aplicarea sistemică a ozonului medical prin autohemoterapie majoră (AHTM), autohemoterapie minoră (AHTm), sub forma infuziilor intravenoase de ser fiziologic sau sub formă de amestec gazos O_2/O_3 în insuflații rectale, vaginale sau infiltrații subcutanate, intramusculare, para/intra articulare posedă efect analgic, antihipoxic, antiinflamator,

antiedematos, antioxidant, miorelaxant, de dezintoxicare și imunomodulator. În urma aplicării sistemice a ozonului în organism sunt activate următoarele procese [214]:

- Activarea și inducerea antioxidantilor biologici și a captatorilor (scavengerii) de radicali liberi;
- Activarea celulelor imunocompetente;
- Activarea metabolismului celulelor roșii sanguine (RBC);

Acțiunea de modulare a statusului antioxidant

În condiții normale de temperatură și presiune atmosferică, datorită instabilității și solubilității sale ridicate ozonul se dizolvă instant în apă ca și în lichidele biologice: în plasmă (apa reprezintă 90% din compoziția plasmei sanguine) [3], în fluidele extracelulare, sau în stratul subțire de apă care acoperă pielea și cel al mucoasei tractului respirator, intestinal, vaginal, etc. Fiind un oxidant puternic reacționează imediat cu un număr de molecule prezente în fluidele biologice și anume cu antioxidanții, proteinele, carbohidrații și în special cu acizii grași polinesaturați (AGP) și nu mai rămâne în formă gazoasă.

Reacția ozonului cu atât de multe molecule implică câteva procese fundamentale care au loc simultan:

- pe de o parte ozonul este consumat inevitabil în timpul oxidării acizilor ascorbic și uric, grupărilor sulfhidrice (SH) ale glutationului redus (GSH), proteinelor și glicoproteinelor prezente în apa plasmei [159], reacție importantă pentru că generează SRO, care declanșează la rândul său un lanț de reacții biochimice în sânge. SRO sunt neutralizate în primele 30-60 de secunde de sistemul antioxidant (SA).
- pe de altă parte are loc reacția de peroxidare a lipidelor [209]. În mediul hidrofil al plasmei, un mol al unei olefine nesaturate (acidul arahidonic transportat de albumină ori prezența în plasmă a trigliceridelor și chilomicronilor) și un mol de ozon, duc la formarea a doi moli de aldehide și un mol de peroxid de hidrogen (H_2O_2), [118]:
 - **$O_3 + \text{antioxidanți} = \text{SRO}$;**
 - **$O_3 + \text{acid arahidonic}$ (sau trigliceride și chilomicroni) = $H_2O_2 + \text{POL}$, [118];**

Aceste reacții, finalizate în câteva secunde, utilizează doza totală de ozon și generează peroxid de hidrogen, un oxidant dar nu o moleculă radical (de obicei inclus în familia SRO) și o varietate de aldehide, cunoscute sub numele de produși de oxidare lipidică (POL).

Imediat ce ozonul se dizolvă în apa plasmatică și reacționează cu acizii grași polinesaturați

(AGP), concentrația de H_2O_2 începe să crească, dar, la fel de rapid scade deoarece această moleculă neionizată pătrunde rapid în eritrocite, leucocite și trombocite, activează mai multe procese biochimice și simultan este supusă reducerii la apă, datorită enzimelor intracelulare antioxidante glutatation-peroxidaza (GPx), catalaza și GSH. Acest moment important corespunde unui stres oxidativ acut și tranzitoriu controlat, necesar pentru activarea biologică, fără vreo toxicitate, cu condiția că doza de ozon este compatibilă cu capacitatea antioxidantă a sângelui [247].

În timp ce SRO sunt responsabile pentru efectele biologice imediate (Figura 1.3.), POL sunt importanți prin efectorii tardivi, care pot ajunge la orice organ, în special la măduva osoasă, unde după legarea de receptori în concentrații submicromolare, determină adaptarea la stresul oxidativ acut repetat, particularitate tipică autohemoterapiei cu ozon [121].

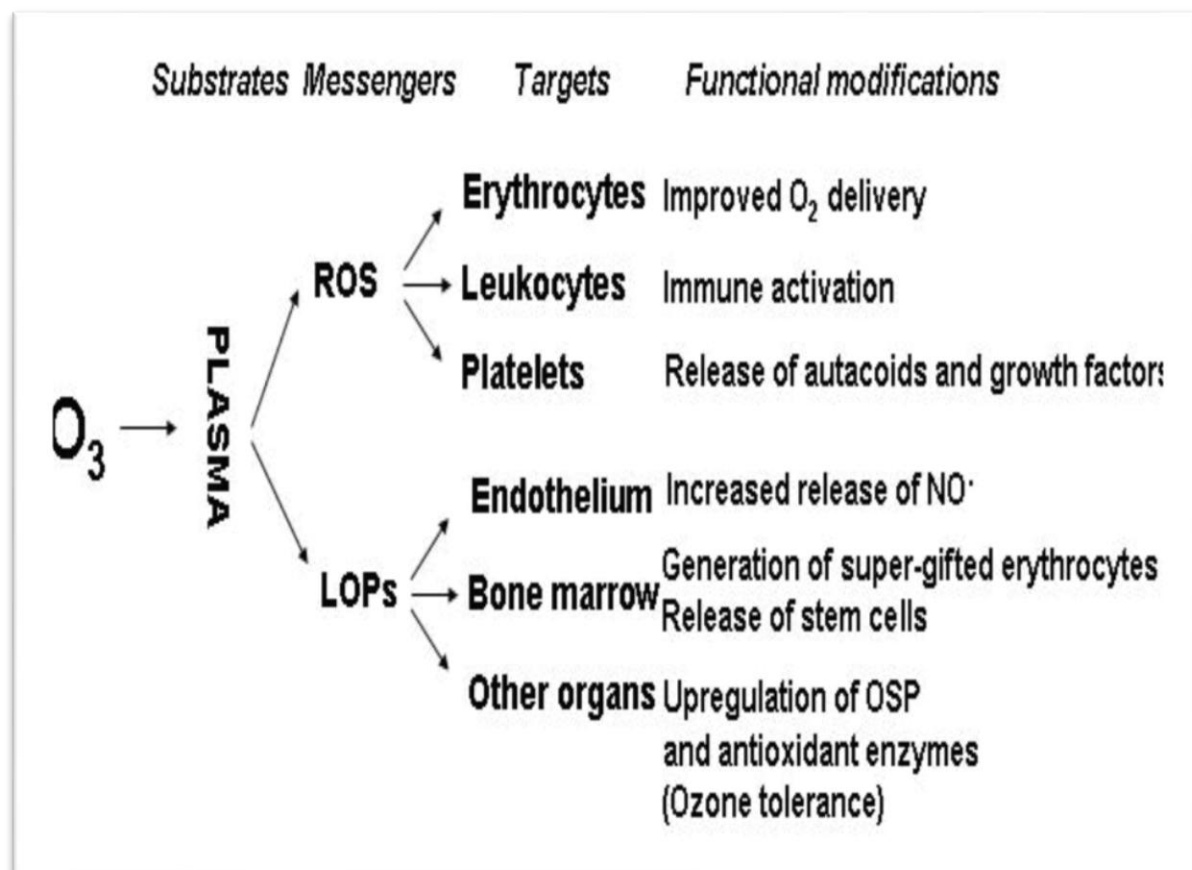


Fig. 1.3. Rezumatul efectelor biologice obținute în timpul AHTM [118].

Având o prezență tranzitorie în citoplasmă, H_2O_2 (generat de ozon) acționează ca un mesager chimic al ozonului. În prezent molecula de H_2O_2 este pe larg recunoscută ca o moleculă

intracelulară de semnalizare, capabilă să activeze tirozin-kinaza, care fosforilează factorul de transcriere/factorul nuclear kappa B (NF-kB), ceea ce permite sinteza unui număr diferit de proteine [105, 107].

Practic H_2O_2 funcționează prin oxidarea cisteinei [217], care la rândul său acționează asupra celulelor mononucleare din sânge [122, 216], a trombocitelor [115], a celulelor endoteliale [256] și a eritrocitelor [116, 118]. Odată pătrunse în celulă, moleculele de H_2O_2 sunt aproape imediat reduse la apă și/liperoxizii la hidroperoxizi.

Hidroperoxizii sau "Peroxizii de ozon", termen propus de mai mulți autori [118] își asumă rolul de metaboliți de ozon fiziologici activi. Datorită reacției selective a ozonului cu legăturile duble $C = C$ ale acizilor grași esențiali, ozonoliza clasică descrisă de Criegee (Figura 1.4.), este reacția dominantă în condiții fiziologice cu valori ale pH-ului $\leq 7,4$.

Ozonoliza durează doar fracțiuni de secundă, formând în mare parte lanțuri scurte de hidroxi-hidroperoxizi într-un mediu apos (peroxizi de ozon), care sunt în mod evident responsabili pentru efectul farmacologic în tratamentul sistemic cu ozon medical.

Peroxizii de ozon sunt compuși reactivi de oxigen, asociați membranelor, ce acționează ca mesageri secunzi prin intermediul reziduurilor de cisteină și/ sau prin glutathionul redus (GSH) într-un mod mai puțin agresiv decât radicalii superoxid și H_2O_2 și preiau reglarea antioxidantă, fără necesitatea de SOD și catalază așa cum ar fi în stresul oxidativ dezvoltat ca rezultat al unor condiții patologice relevante (Figura 1.5., 1.6.).

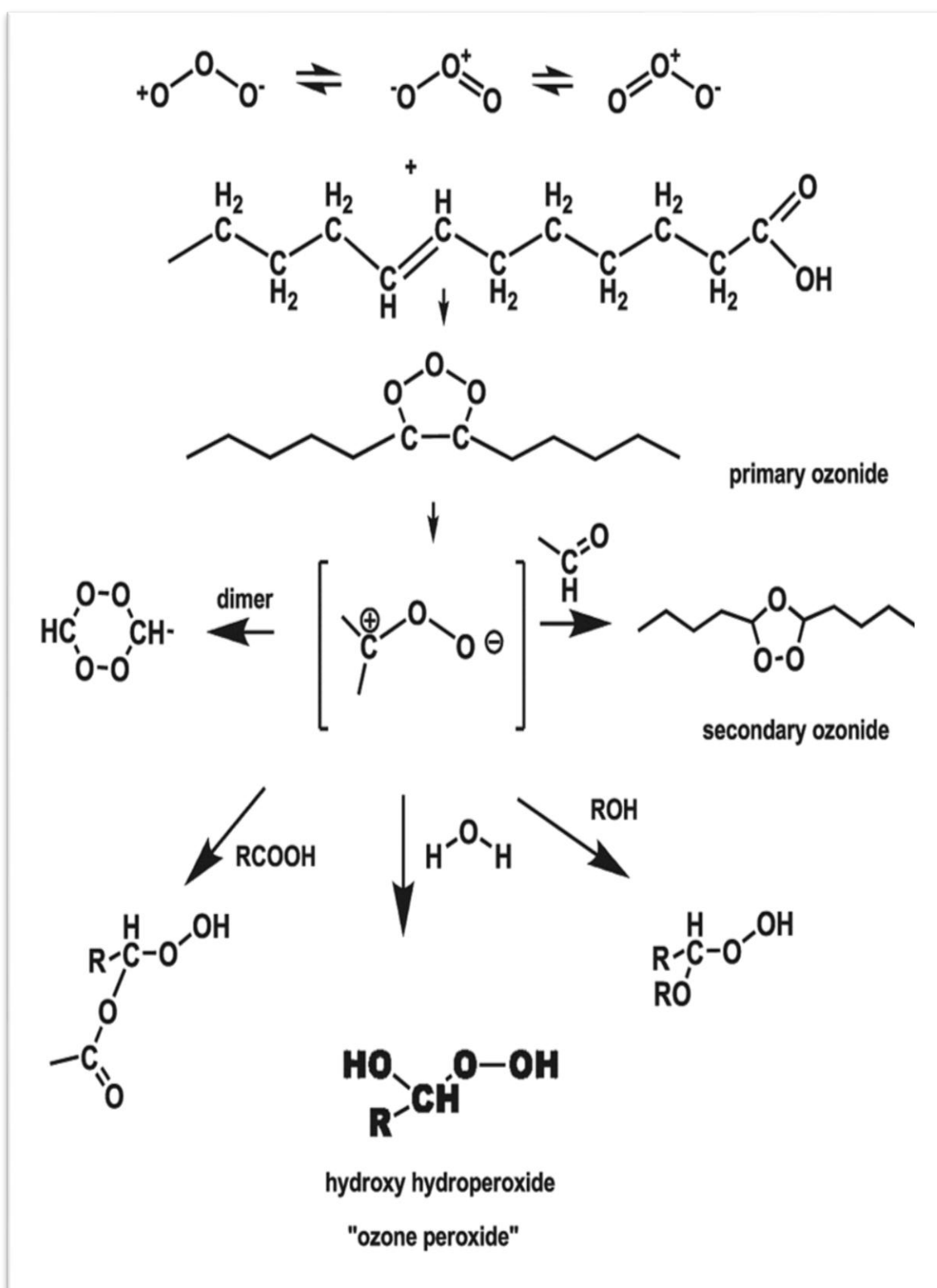


Fig. 1.4. Reacția ozonului cu legăturile duble izolate (mecanismul Crigée). Hidroperoxizii, în cazul dat "peroxizii de ozon", sunt percepuți ca substanțe farmacologic active [215].

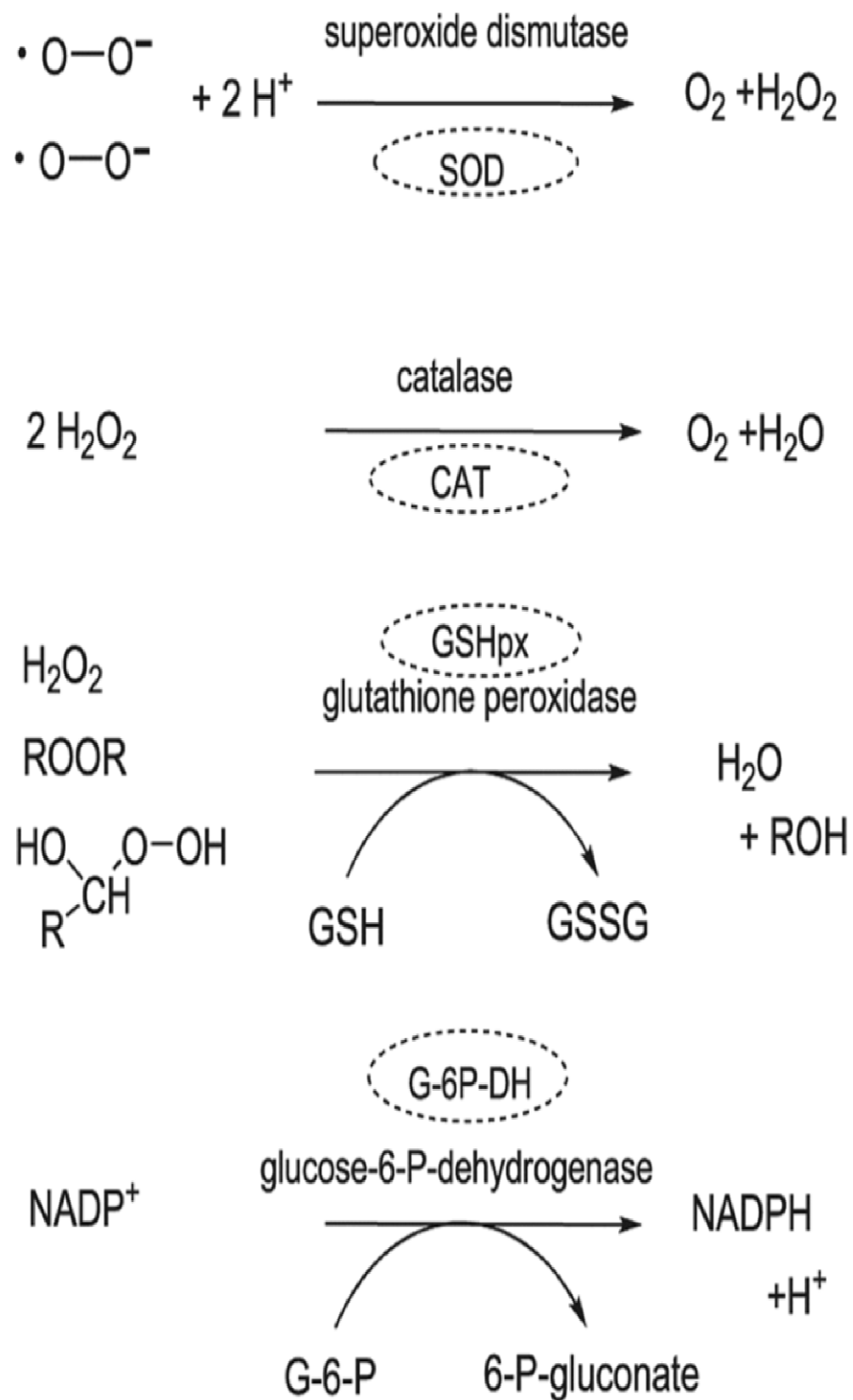


Fig. 1.5. O situație de stres oxidativ în care sistemul biologic de antioxidare, reduce SRO. "Peroxizii de ozon" sunt controlați de sistemul glutationic și nu de catalază [215].

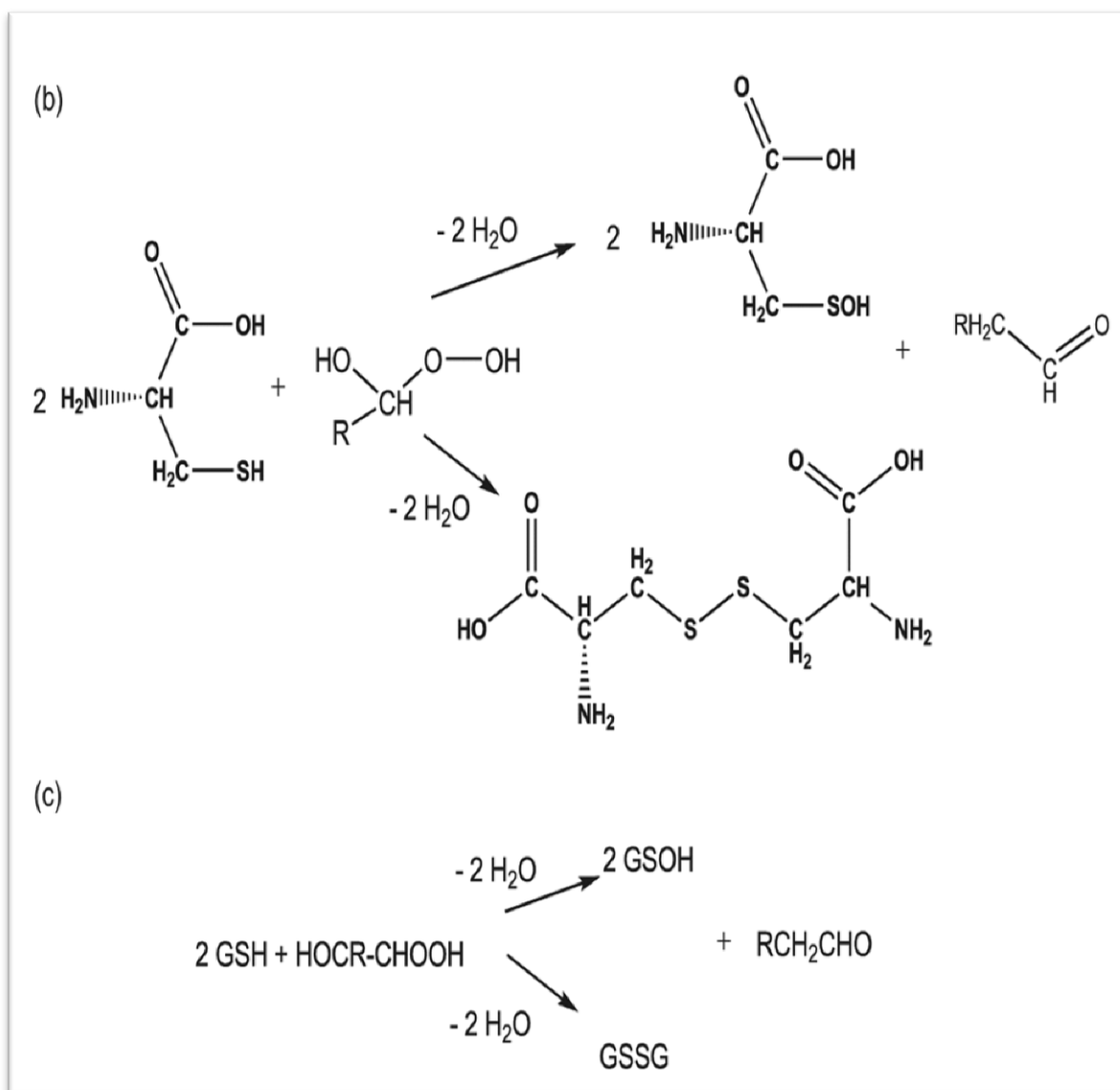


Fig. 1.6. (b) Reacția "peroxizilor de ozon" cu cisteina (reziduuri) și (c) Glutathionul [215].

Hidroxi-hidroperoxidul cu lanț scurt cu tendință scăzută la reacții radicale ar putea iniția reglarea mecanismelor antioxidante protective în calitate de semnal de redox (ex: prin intermediul factorului nuclear Nrf2 în stres și prin intermediul factorului nuclear NF-kB în procese inflamatorii (Figura 1.7.) [215].

Într-un tratament îndelungat, activitatea POL va culmina cu reglarea enzimelor antioxidante, apariția proteinelor de stres oxidativ (OSP) (hemoxigenaza 1, un marker tipic) și probabil eliberarea de celule stem, factori esențiali care explică unele dintre efectele extraordinare ale ozonoterapiei. Răspunsul terapeutic obținut după aceste stresuri oxidative repetate sugerează un efect de condiționare, capabil eventual să reechilibreze sistemul de oxido-reducere tisular, modificat prin factori patogeni [118].

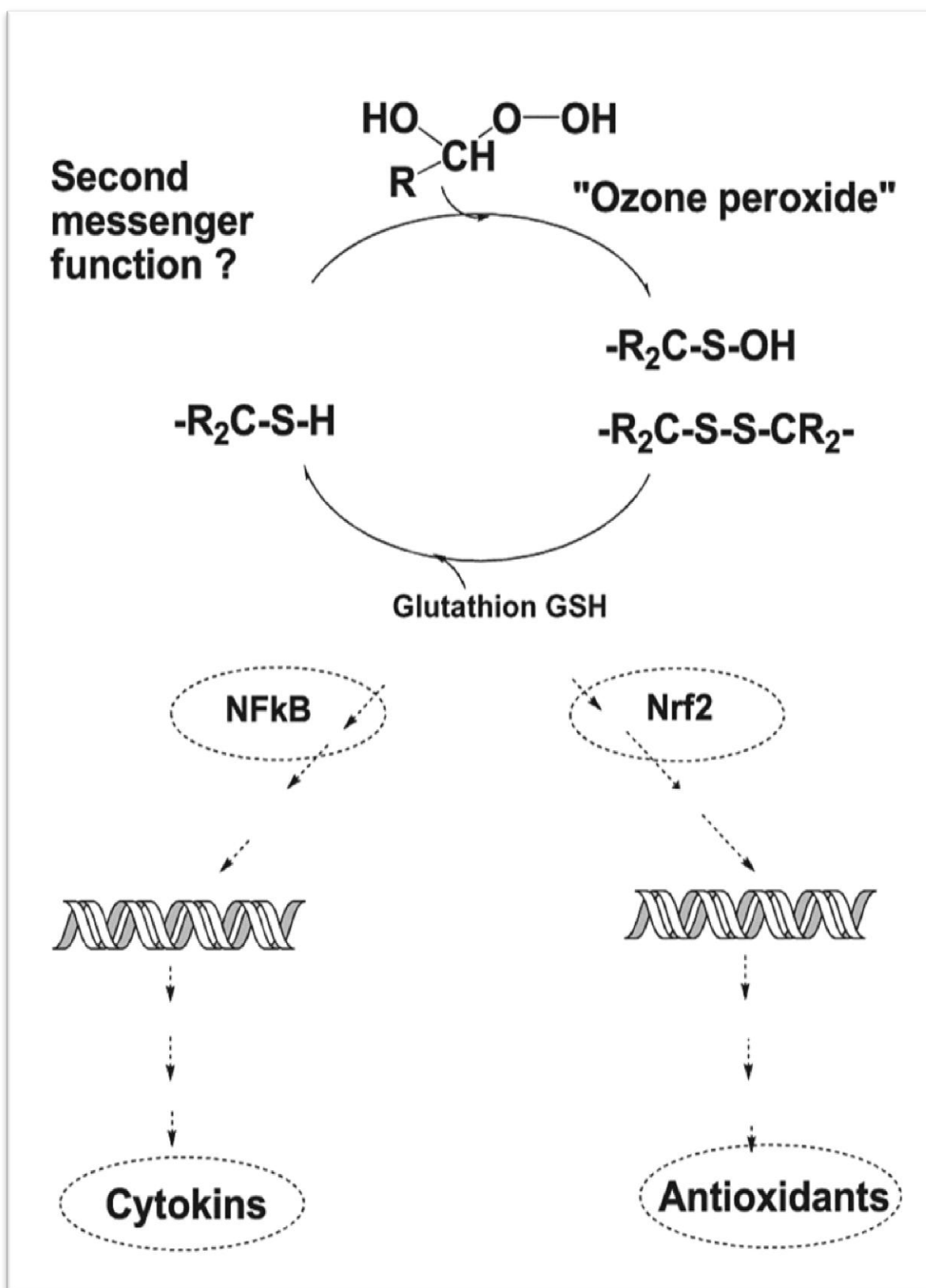


Fig. 1.7. "Peroxizii de ozon" ca mesageri secunzi de transmitere a semnalului intracelular. Procesele de oxidare a reziduurilor de cisteină și a glutathionului induc reglarea citokinelor prin NF- κ B și respectiv a sistemului antioxidant prin Nrf2 [215].

Acțiunea imunomodulatorie

În prezent efectele imunomodulatoare ale ozonoterapiei sunt legate de inducerea de citokine de către limfocite și monocite [121], cum ar fi interferonii (IFN) beta și gama, interleukinele (IL) 1B, 2, 4, 6, 8 și 10, factorul de necroză tumoral (TNF) și factorii de creștere GM-CSF (factorul stimulator al coloniilor de granulocite și macrofage), TGFβ1 (factorul transformator de creștere beta 1) [117], PDGF (factori de creștere plachetari), bFGF (factorul de creștere a fibroblastelor bazic), EGF (factorul de creștere epidermal), KGF (factorul de creștere keratinocitar) promovând astfel sinteza matricei intercelulare și procesul de vindecare [111, 235, 246] (Figura 1.10.). Posibil că aceste citokine pot activa și alte celule limfoide, fapt ce duce la imunostimulare fără efecte secundare [185, 242].

Totodată, se studiază influența ozonului asupra activității fagocitare a leucocitelor. Terapia cu ozon medical modulează toate etapele dereglate ale procesului de fagocitoză și contribuie la eliminarea rapidă a inflamației [34]. În primul rând se reduce timpul de aderență la suprafața fagocitului (PMN, macrofage) și în al doilea rând este deosebit de pronunțată activarea etapei de explozie respiratorie, determinată de formarea de peroxizi. O alta modalitate posibilă de activare fagocitară este creșterea sintezei factorului de stimulare fagocitară [72].

Acțiunea hemoreologică

Eritrocitele dețin un mare rezervor de GSH (aproximativ 1 mmol/l), tioredoxin cu două cisteine disponibile și enzime antioxidante puternice (catalaza, GR, GPx, G-S-T și SOD). Ele pot neutraliza rapid cantități mari de oxidanți, cum ar fi $\cdot\text{OH}$, H_2O_2 , OCl^- , ONOO^- și în același timp pot recicla înapoi compușii oxidați [114].

În eritrocite, activarea proceselor dependente de oxigen se manifestă, prin creșterea activității sistemului glutatonic [121, 214]. Oxidarea grupelor sulfhidrilice ($-\text{SH}$) are ca rezultat acumularea formei oxidate de glutatone (GSSG) cu modificarea raportului GSH redus către cel oxidat [118], ceea ce duce la utilizarea nicotinamid adenin dinucleotid fosfatului, forma redusă (NADPH), pentru reciclarea glutatoneului oxidat (GSSG) la nivelul inițial de GSH. NADPH este o coenzimă ce servește ca donator de electroni pentru diferite reacții biochimice, în plus NADPH restabilește și alți antioxidanți intracelulari, mai ales vitamina E și acidul ascorbic [72].

La rândul său NADP, forma oxidată este redusă după activarea căii pentozo-fosfat, în care glucozo-6-fosfat dehidrogenaza (G-6-PDH) este enzima cheie, ceea ce duce la creșterea glicolizei (Figura 1.8.), [121].

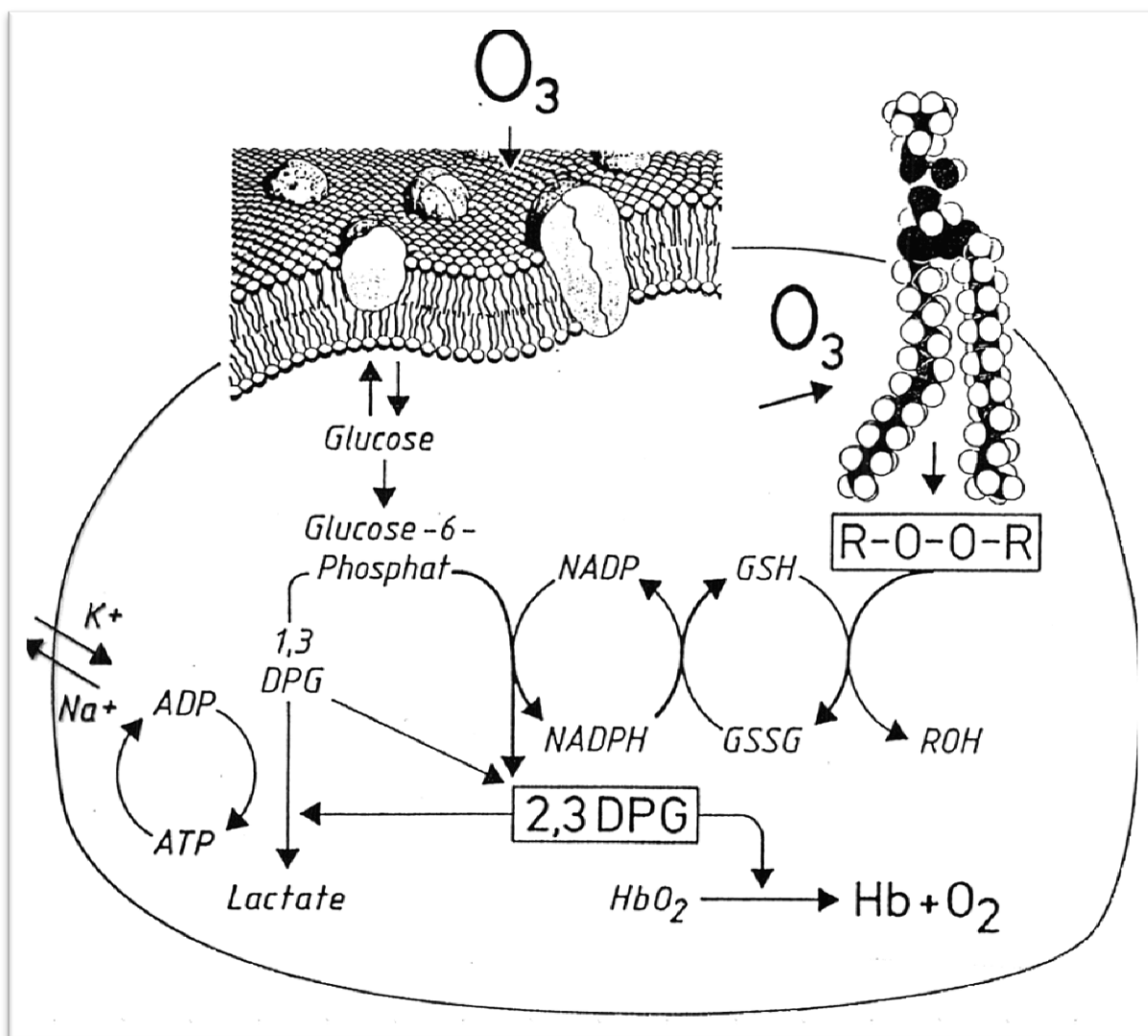


Fig. 1.8. Acțiunea ozonului asupra metabolismului RBC [214].

Prin urmare, ozonoterapia stimulează metabolismul oxigenului prin creșterea glicolizei în eritrocite (Figura 1.10). Aceasta conduce, pe de o parte, la activarea sintezei 2,3 difosfogliceratului (2,3-DFG) și pe de altă parte la creșterea glicolizei. Activarea sintezei 2,3-DFG produce o creștere a cantității de oxigen eliberată de oxihemoglobină către țesuturi, îmbunătățind astfel alimentarea țesuturilor cu oxigen.

Consumul sporit de oxigen în organism a fost demonstrat prin metode speciale de măsurare a gazelor în sânge. Confirmarea cea mai clară a fost, constatarea creșterii diferenței arterio-venoase a oxigenului [222]. Presiunea parțială a oxigenului în sângele venos, după o cură de ozonoterapie, scade de la 40 mm Hg la 20 mm Hg sau și mai mult [72, 76, 223], ceea ce înseamnă că ozonoterapia asigură cedarea sporită a oxigenului către țesuturile insuficient alimentate cu sânge – efect ce nu poate fi obținut cu ajutorul medicamentelor [132, 241].

Creșterea glicolizei duce la activarea ciclul Krebs (calea aerobă) prin sporirea producției de adenozin trifosfat (ATP). Scăderea *in vitro* a nivelului de glucoză în plasmă a fost demonstrată în numeroase studii [118], mai ales în mod clar acest lucru se manifestă la pacienții cu diabet zaharat [75].

În procesul ozonoterapiei are loc saturarea cu oxigen atât a plasmei, cât și a eritrocitelor. În prezența ozonului, sângele poate să absoarbă de 2–10 ori mai mult oxigen decât în condiții obișnuite [101]. Totodată, este posibilă menținerea schimbului de substanțe prin lichidul extracelular, în condițiile tonusului vascular dereglat. Toți pacienții cărora li s-a administrat ozon în forma de AHTM au demonstrat o creștere statistic semnificativă a presiunii parțiale a oxigenului în sângele arterial, scăderea presiunii parțiale a bioxidului de carbon și creșterea conținutului de oxihemoglobină [101].

Alt studiu [269], a indicat posibilitatea măririi gradului de oxigenare a sângelui în cazul efectuării insuflărilor rectale cu amestec gazos de O_2-O_3 . Timpul normal de reducere a oxihemoglobinei este de 130–150 sec. În cadrul administrării rectale a ozonului, timpul de reducere se mărește până la 200–220 sec., dar revine la normal după 24 de ore. Dacă ședințele se efectuează zilnic, se observă o dinamică de creștere a timpul de reducere (Figura 1.9.).

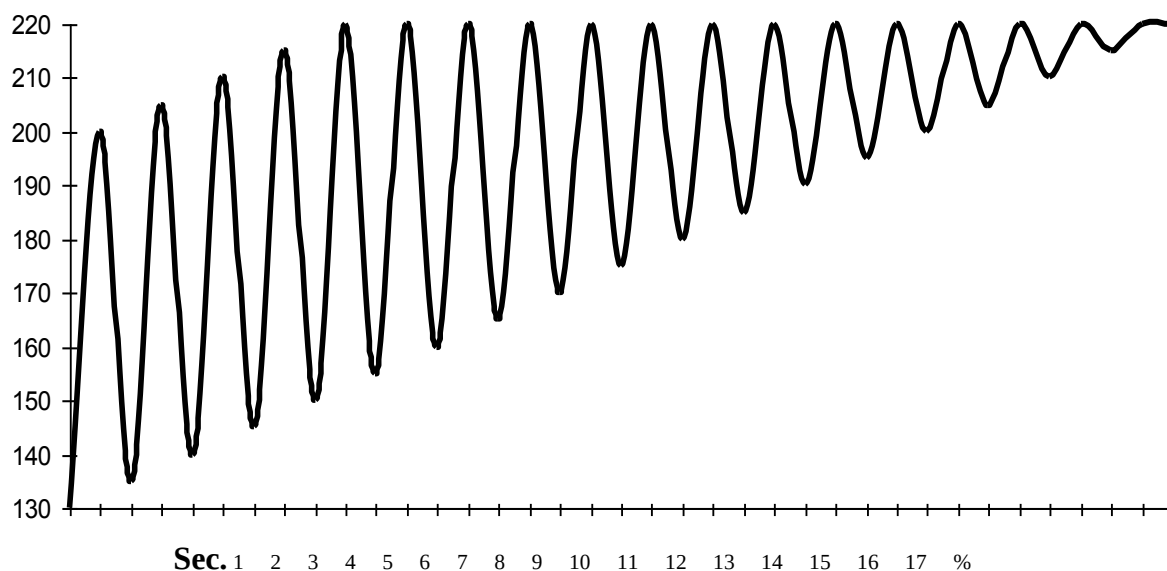


Fig.1.9. Dinamica timpului de reducere a oxihemoglobinei în urma terapiei cu ozon în formă de insuflății rectale zilnice.

După încetarea tratamentului, timpul maxim de reducere a oxihemoglobinei scade foarte lent, pe durata câtorva săptămâni sau chiar luni.

Pare evident că eritrocitele pot fi modificate prin ozonoterapie numai pentru o perioadă scurtă de timp. Totodată administrările terapeutice repetate pot permite compușilor POL să ajungă la măduva osoasă și să activeze dezvoltarea subtilă la nivelul eritropoietic, favorizând formarea de „eritrocite superdotate” – eritrocite noi cu caracteristici biochimice îmbunătățite [114]. Conform acestei ipoteze datorită ozonoterapiei îndelungate, măduva osoasă poate elibera un grup (aproximativ 0,9% din fondul total) de eritrocite noi cu caracteristici biochimice îmbunătățite.

De fapt, avantajul terapeutic nu se oprește brusc cu încetarea tratamentului, ci mai degrabă persistă 2-3 luni, probabil legat de durata de viață a eritrocitelor superdotate circulante. S-a demonstrat faptul că, după un ciclu îndelungat de ozonoterapie, fracțiunea de eritrocite tinere, izolate de cele bătrâne [190] prin separarea în gradient de densitate, a avut un conținut de G-6-PDH mult mai ridicat [114]. Un astfel de rezultat confirmă ipoteza că doar un ciclu de 15 – 20 ședințe consecutive de AHTM (nu mai puțin de 3 litri de sânge ozonat per total) ar putea îmbunătăți o patologie ischemică.

Activarea proceselor metabolice în eritrocite contribuie la acumularea compușilor macroergici ATP [191]. Ca rezultat, se intensifică funcția de transport a membranei celulare, prin activitatea pompelor ionice $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP-aza}$ și ca urmare se reglează concentrația cationilor intracelulari (K^+) și extracelulari (Na^+), nivelul potențialului membranal de repaus și dispunerea sarcinilor electrice, astfel modificându-se activitatea de adeziune și agregare al celulelor, ceea ce determină proprietățile reologice ale sângelui. În plus, formarea în bistratul lipidic membranal a peroxizilor micșorează vâscozitatea membranei lipidice bistratificate, fapt ce îmbunătățește flexibilitatea și elasticitatea (capacitatea de deformare) eritrocitelor [72].

SRO și POL sunt responsabili nu doar de creșterea funcțiilor eritrocitare [118], dar și de activarea leucocitelor [121, 201], trombocitelor [115, 257] și celulelor endoteliale [256]. Această activare multidirecțională și simultană duce la o eliberare sporită de oxid nitric (NO), prostaciline (prin reacția selectivă cu legăturile duble din acidul arahidonic, declanșând metabolismul lui), adenoze [219], autacoide și contribuie la îmbunătățirea vascularizării țesutului [167].

Într-adevăr, POL interacționând cu endoteliul, sporește sinteza de oxid nitric prin intermediul NO-sintetazei și L-argininei. NO (și NO-tiolii) și CO sunt gazele fiziologice cruciale capabile să activeze guanilat-ciclaza, astfel încât eliberarea de guanozin-monofosfat ciclic (GMP) să îmbunătățească vasodilatația [118], ceea ce crește aportul de oxigen, îmbunătățind astfel microcirculația. Mai mult, fenomenul de adaptare la stres oxidativ cronic

implică faptul că tratamentele repetate cu ozon induc sinteza proteinelor de stres oxidativ, din care HO-1 (hemoxigenaza) este un exemplu primar. Această enzimă va produce un nivel crescut de bilirubină (un antioxidant lipofil la fel de puternic ca tocoferolul) și CO. Enzima reduce în mod indirect vasoconstricția deoarece suprimă expresia genelor de endotelina-1 și inhibă proliferarea celulelor musculare netede [143, 193]. Este cunoscut faptul că NO, eliberarea căruia este sporită în ozonoterapie [167, 256], este cel mai important vasodilatator fiziologic și inhibitor de agregare plachetară și leucocitară și de adeziune la endoteliu care în cooperare cu anumite urme de CO sporește relaxarea vasculară [121].

Studiile care investighează efectele ozonoterapiei asupra parametrilor hematologici/hemodinamici au demonstrat că tratamentul cu ozon medical, practic nu modifică nici nivelurile methemoglobinei, nici nivelurile hematocritului, pentru că nu are loc vreo schimbare a volumului RBC, cauzată de edem sau liză, dar influențează activ sistemul de coagulare a sângelui. Scăderea vâscozității sangvine și plasmatică se datorează nivelurilor reduse de fibrinogen [116, 228].

Fibrinogenul este factorul primar de coagulare, proprietatea biologică a căruia este capacitatea de a se coagula sub influența enzimei specifice – trombina. Produsul acestei reacții – fibrina, formează baza reticulară a trombului, care obliterează vasul afectat. Fibrinogenul joacă un rol important în agregarea eritrocitelor și trombocitelor [44], mărirea concentrației de fibrinogen, conduce la creșterea vâscozității sângelui [25], astfel, crescând activitatea fibrinolitică, ozonul medical, în concentrații joase, scade agregarea celulelor sangvine și ameliorează proprietățile reologice ale sângelui [90]. Activarea mecanismului fibrinolitic în sistemul de hemostază previne dezvoltarea cheagurilor de sânge, provocând tromboza parțială sau totală, ceea ce duce la liza fibrinei și asigură eliminarea ei din patul vascular. Acesta fiind unul dintre mecanismele primare de revascularizare și de restabilire a fluxului de sânge la organe și țesuturi [25].

În concentrații înalte ozonul medical, utilizat doar în aplicații externe, are un efect pronunțat hemostatic [121].

Prin urmare, nu ozonul în sine, dar SRO (în mare parte H_2O_2) și POL sunt responsabili pentru reacțiile biochimice succesive și multiple care au loc în diferite celule prin tot corpul [121].

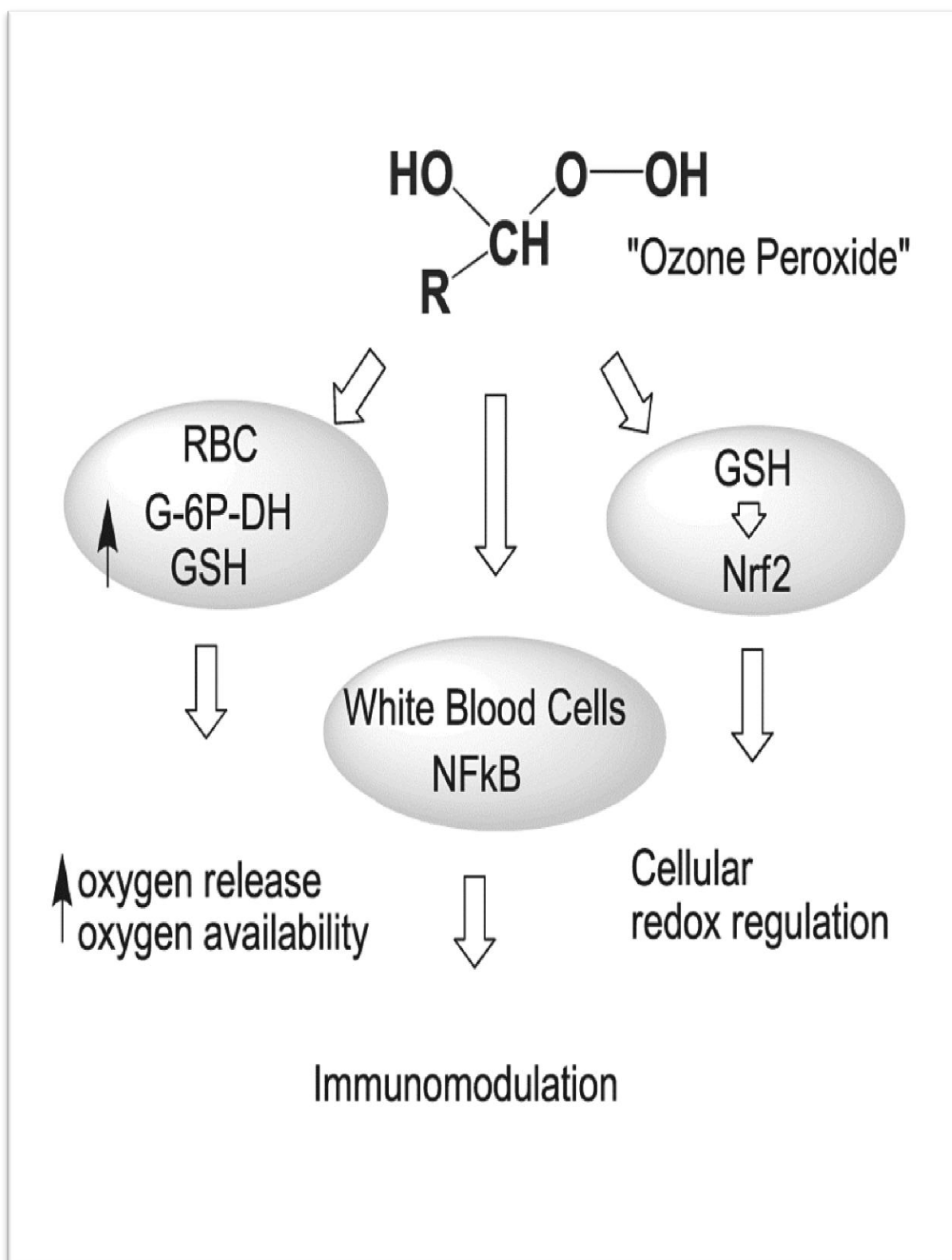


Fig. 1.10. Cele trei efecte farmacologice ale ozonului medical obținute prin peroxizii produși de ozon: (1) Eliberarea îmbunătățită de oxigen de către globulele roșii din sânge (RBC); (2) Imunomodulare prin activarea celulelor albe din sânge (WBC) și (3) Reglarea sistemului antioxidant celular [215].

Alte acțiuni ale ozonului medical

Acțiunea de detoxifiere

Efectul de detoxifiere a ozonului medical se manifestă prin corectarea și activarea proceselor metabolice, oxidarea prin H_2O_2 a deșeurilor biologice și a toxinelor, transformându-le în substanțe inerte, care sunt ușor eliminate din organism prin piele, ficat și rinichi.

Acțiunea antialgică

Efectul analgezic al ozonului medical este determinat de hiperoxigenarea treptată a zonei de inflamație și oxidarea produșilor rezultați în urma degradării moleculelor proteice (oligopeptide), care, în țesutul deteriorat, acționează asupra terminațiilor nervoase implicate în transmiterea semnalului SNC și care determină intensitatea răspunsului la durere [72]. În plus, mecanismul său analgezic este considerat a fi bazat pe stimularea aparatului antinociceptiv, mediată de opioizi endogeni și serotonină, astfel ridicând pragul durerii. Pe lângă acestea, proprietățile antiinflamatorii marcate ale ozonului reduc edemul și compresia pe structurile profunde nervoase [99].

Acțiunea miorelaxantă

Ozonul reduce concentrația calciului intracelular și la nivelul joncțiunii neuromusculare, ceea ce conduce la reducerea eliberării de acetilcolină [121], astfel scade tensiunea și crește flexibilitatea musculară. Ozonul medical oxidează acidul lactic, ceea ce reduce acumularea lui în țesutul muscular și sânge, crește rezistența musculară și previne durerea după efort fizic.

Contraindicații

Terapia cu ozon medical nu generează alergii sau intoleranțe, nu are reacții adverse, întrucât este un gaz pur O_2-O_3 ce se obține din oxigen medical.

Contraindicațiile pentru terapia cu ozon medical sunt următoarele:

- Hipertiroidismul (daca nu este sub control)
- Deficitul eritrocitar de G-6-PDH (favism, anemie hemolitică acută)
- Leucemie

Ozonul medical ar trebui să fie utilizat cu prudență în caz de condiții decompensate: insuficiența cardiacă decompensată, intoxicația acută cu alcool, condiții hipoglicemice, reacții extreme simpaticotonice și parasimpaticotonice (vagotonice) și cancer [225].

1.4 Utilizarea ozonului în stomatologie

Ozonul medical utilizat pe larg în medicina generală este aplicat în stomatologie ca tratament complementar sau în combinație cu alte metode de ozonoterapie [112].

Cavitatea bucală găzduiește în mod normal, aproximativ 20 g de bacterii comensale, care sunt bine ținute sub control de către țesutul limfoid asociat mucoaselor (MALT). Cu toate acestea, ele pot deveni patogene și sunt în mare parte responsabile pentru apariția cariilor dentare, fapt raportat de către Dr. E. Fisch (1899-1966), considerat primul dentist care a utilizat ozonul în practica sa și care a arătat potențialul activității de dezinfectare a ozonului [121].

Cel mai des în stomatologie și chirurgie maxilo-facială (CMF) sunt utilizate soluțiile ozonate [229]. La cel de-al XV-lea Congres Mondial organizat de Asociația Internațională de Ozon (IOA, 2001) a fost raportat că, aplicarea apei ozonate în CB, vindecă rănilor mult mai rapid în comparație cu tratamentul placebo. În stomatologie apa bidistilată ozonată se utilizează pentru asanarea antiseptică a CB, irigarea leziunilor carioase și canalelor radiculare. Jetul de apă ozonată elimină în totalitate materialul purulent și dezinfectează zona afectată [147].

Utilizarea ozonului în combinație cu detartrajul și periajul profesional al dinților permite obținerea unei îmbunătățiri considerabile a indicilor igienei CB și a indicilor parodontali [89, 124].

Deși utilizarea directă a ozonului în forma gazoasă este interzisă (toxic prin inhalare), A. Baysan și E. Lynch au folosit cu succes un sistem nou de livrare a ozonului în tratamentul leziunilor carioase radiculare primare (PRCL), capabil să evite orice risc toxic [206]. Sistemul include o sursă de ozon medical și o piesa dentară de mână, în capul căreia se fixează o ventuză din silicon detașabilă. Având o margine elastică, ea se etanșează la suprafața dintelui și permite expunerea leziunii carioase la gaz. Expunerea la ozon pentru o perioadă de 10-20 sec. cu o concentrație de ozon (circa 4 mcg/ml) și un debit de gaz de aproximativ 600 ml/min. este suficientă pentru a distruge toate microorganismele prezente în leziunile carioase radiculare primare. Deosebit de important în cazul dat, este denaturarea proteinelor și moartea lactobacililor care, în procesul metabolizării glucozei, produc acid lactic, ceea ce favorizează demineralizarea smalțului dentar. Efectul sterilizării rapide a suprafeței dentare de către ozon se menține aproximativ o oră, timp suficient pentru remineralizarea smalțului de către fosfatul de calciu prezent în salivă, dintele devenind astfel dur și rezistent la mai multe atacuri bacteriene pentru cel puțin trei luni [109].

Proprietatea antimicrobiană a ozonului medical utilizată în reducerea numărului de

bacterii cariogene, este de asemenea, cauza reducerii semnificative a microorganismelor prezente în BP. Apa ozonată, din punct de vedere al unui potențial agent antiseptic, prezintă, în majoritatea condițiilor, o citotoxicitate mai redusă decât ozonul gazos sau agenții antimicrobieni consacrați, precum digluconatul de clorhexidină, hipocloritul de sodiu sau peroxidul de hidrogen. Prin urmare, apa ozonată îndeplinește caracteristicile biologice celulare optime în ceea ce privește biocompatibilitatea pentru aplicarea orală [249].

Unii autori recomandă, complementarea metodelor chirurgicale în CMF cu ozonoterapia. Utilizarea ozonului în perioada pre- și postoperatorie a permis o îmbunătățire considerabilă a evoluției postoperatorii, o accelerare a epitelizării plăgii operatorii și o reducere a timpului administrării de antibiotice [68]. În CMF sunt utilizate local soluțiile ozonate în tratarea proceselor inflamatorii purulente (periostită, alveolită, flegmon) [46, 134], în fracturi deschise ale mandibulei și în profilaxia posttraumatică a complicațiilor inflamatorii.

Actualitatea aplicării ozonoterapiei în cazul proceselor inflamatorii în regiunea OMF este determinată de răspândirea formelor de microorganisme rezistente la antibiotice și de modificarea capacității de reacție a pacienților.

Mai mulți autori menționează despre necesitatea aplicării ozonoterapiei sistemice, invocând acțiunea imunomodulatorie a ozonului medical, ce permite reducerea perioadei de exudare din plagă, accelerează apariția granulației și epitelizarea plăgilor la pacienții cu flegmoane cu evoluție torpidă a regiunii OMF [68].

În endodonție ozonul medical este foarte eficient, doar că trebuie asigurată corectitudinea aplicării ozonului și anume: concentrația suficientă, timp adecvat și modul corect de aplicare în canalele radiculare, bineînțeles după ce prepararea, irigarea și curățarea tradițională endodontică a fost finalizată.

Studiile au demonstrat potențialul utilizării ozonului în formă de gaz, de apă ozonată și ulei ozonizat în terapia endodontică. Apa ozonată poate fi utilizată ca un irigant final în combinație cu un dispozitiv ultrasonic care produce un „striming” acustic foarte eficient, ce permite apei ozonate să penetreze multe porțiuni ale anatomiei intraradiculare, cu mult mai eficient decât metodele convenționale de obturare [152].

Utilizarea ozonului în prevenirea periimplantitelor este motivată prin asigurarea unui regim adecvat și constant de control a plăcii bacteriene, în plus ozonul prezintă un efect pozitiv de vindecare a rănilor datorită creșterii circulației sanguine în țesut.

Prezintă interes comunicările privind aplicarea uleiurilor ozonizate în CMF, în special în alveolită [134]. Autorii remarcă reducerea perioadei de vindecare în comparație cu durata

terapii tradiționale. În cazul afecțiunilor inflamatorii ale mucoasei rezistente la tratament (stomatită herpetică recidivantă ș. a.) autorii recomandă combinarea ozonoterapiei locale cu cea sistemică. O astfel de schemă de tratament permite obținerea în termen scurt a unei remisii stabile la majoritatea pacienților [175].

La fel prezintă interes posibilitatea utilizării ozonului în calitate de antiseptic local în tratarea sinuzitei odontogene purulente. Conform studiilor, ozonoterapia este cea mai eficientă în comparație cu alte metode de tratament al patologiei date. În cazul sindromului accentuat de intoxicare, care complică evoluția sinuzitei, se recomandă combinarea ozonoterapiei locale cu cea sistemică. Acest fapt permite normalizarea rapidă a indicilor biochimici ai sângelui [77].

Astfel, ozonoterapia cunoaște o aplicare tot mai largă în practica stomatologică, inclusiv în parodontologie [14]. Ozonul acționează asupra câtorva verigi patogenice ale afecțiunilor parodontiului, în primul rând reglează sistemul antioxidant (SA), apoi îmbunătățește alimentarea cu oxigen și reduce timpul de vindecare a țesuturilor parodontiului. Bineînțeles acțiunea sa bactericidă și capacitatea imunomodulatorie sunt de o importanță majoră.

1.5 Concluzii la capitolul 1

1. În patogeneza bolii parodontale rolul determinant îi revine factorului microbian și răspunsului imuno-inflamator al organismului.
2. Molecula de ozon este instabilă și se autodescompune în oxigen cu degajare de căldură. Calitatea de bază care definește specificul proprietăților fizico-chimice este nivelul înalt de energie în exces a moleculei de ozon și acțiunea puternică de oxidare. Efectul farmacologic al ozonului medical urmează așa-zisul fenomen de hormeză, caracterizat prin efectul stimulator sau benefic al expunerii la concentrații joase la un agent care devine toxic la concentrații mai mari.
3. Mecanismul de acțiune al ozonului medical se împarte în două categorii majore, în dependență de modalitatea de aplicare: aplicarea topică și aplicarea sistemică. Acțiunea ozonului medical asupra organismului uman este diversă și multidirecțională. Ozonul medical posedă efect analgezic, antiinflamator, antiedematos, antioxidant, miorelaxant, de dezintoxicare, imunomodulator, antimicrobian, antiviral, antifungic, activează procesele metabolice celulare, stimulează metabolismul oxigenului și îmbunătățește proprietățile reologice a sângelui.

4. Ozonoterapia este o metodă înalt eficientă de tratament a multor afecțiuni, la baza patogenezei cărora se află sindromul inflamator de etiologie bacteriană și răspunsul imuno-inflamator a gazdei. Totodată, spre deosebire de terapia cu antibiotice, ozonoterapia nu are efecte adverse. În același timp, influența ozonului asupra evoluției afecțiunilor parodonțiului practic nu este studiată. Astfel, aspectele utilizării ozonului medical în parodontologia clinică necesită o studiere mai aprofundată.

Așadar, reieșind din analiza literaturii contemporane, din experiența proprie acumulată și presupunerile vizavi de cercetarea propusă, s-a formulat scopul și obiectivele studiului.

Scopul studiului

Argumentarea patogenică a utilizării oxigenului activ în forma sa alotropă în tratamentul complex al parodontitelor marginale cronice grave (PMC grave).

Obiectivele studiului

1. Elaborarea și utilizarea metodei de administrare a ozonului medical în țesuturile parodontale.
2. Evaluarea microbiocenozei PPr la pacienții cu PMC gravă, utilizând metoda de tratament propusă în raport cu tratamentul clasic nechirurgical.
3. Evaluarea nivelului sangvin al enzimei sistemului AO – superoxid dismutaza (SOD), la pacienții cu PMC gravă, utilizând metoda de tratament propusă în raport cu tratamentul clasic nechirurgical.
4. Studiul microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal prin metoda fluxmetriei laser-Doppler (LDF), la pacienții cu PMC gravă, utilizând metoda de tratament propusă în raport cu tratamentul clasic nechirurgical.
5. Elaborarea unui algoritm terapeutic de aplicare a ozonului medical în tratamentul complex al PMC grave.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

2.1 Metodologia de efectuare a studiului

Boala parodontală reprezintă o afecțiune cronică de tip inflamator care afectează parodonțiul, țesutul de susținere a dinților în alveolele dentare și poate fi sursa generatoare de inflamație sistemică. În cursul bolii parodontale are loc o reducere, prin resorbție, a cantității de os alveolar, determinată de apariția unui răspuns imun inadecvat față de agresiunea bacteriană, în care organismul sintetizează o serie de citokine și molecule proinflamatorii. Treptat leziunile majore a osului alveolar conduc la apariția pungilor parodontale în care se acumulează bacterii, tartru, exudat purulent, etc., ceea ce în final duce la expulzarea dinților din alveolele dentare [11].

În elaborarea studiului dat au fost utilizate metode de cercetare și analiză comparativă a surselor bibliografice naționale și internaționale cu privire la etiopatogenia parodontitelor marginale cronice, precum și examene clinice amănunțite, examene paraclinice și funcționale moderne care au permis stabilirea unui algoritm de diagnostic și plan de tratament. Procesul de cercetare a inclus înregistrarea caracteristicilor de vârstă/sex, aprecierea statusului parodontal și evaluarea stării generale. Au fost aplicate metode de cercetare analitice, statistice, și matematice. Primordial a fost utilizată metodologia cercetării clinico-statistice și matematico-statistice asupra particularităților clinice de manifestare și a metodelor de tratament.

Etapele efectuării studiului

Obiectul de studiu l-au constituit pacienții diagnosticați cu parodontită marginală cronică forma gravă, care au fost incluși în 2 loturi: lotul de studiu și lotul de control. Studiul a fost realizat pe parcursul anilor 2005-2015, divizat în mai multe etape:

Etapă I – Planificarea efectuării studiului

- Analiza surselor bibliografice;
- Determinarea volumului, dimensiunilor eșantionului și metodelor de cercetare;
- Elaborarea chestionarului, stabilirea unui algoritm de diagnostic și plan de tratament.

La această etapă au fost analizate sursele bibliografice, ceea ce a permis aprecierea problemei, formularea scopului și propunerea a 5 obiective. Ulterior s-a planificat volumul cercetării, dimensiunea eșantionului și metodele de cercetare.

Pentru determinarea volumului eșantionului, a fost aplicată următoarea formulă:

$$n = \frac{1}{(1-f)} \times \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \times P(1-P)}{(P_0 - P_1)^2} \quad (2.1)$$

unde:

P_0 -proporția cumulativă a reușitei prin aplicarea tratamentului standard la pacienții cu PMC gravă. Conform datelor bibliografice, reușita, în mediu, constituie 60,0% ($P_0=0,60$).

P_1 - proporția cumulativă a reușitei prin aplicarea tratamentului modificat la pacienții cu PMC gravă în lotul de cercetare. S-a presupus, că valoarea va atinge 90,0% ($P_1=0,90$).

$$P = (P_0 + P_1)/2=0,75 \quad (2.2)$$

Z_{α} – valoarea tabelară. Când „ α ” – pragul de semnificație este de 5%, atunci coeficientul $Z_{\alpha}=1,96$

Z_{β} – valoarea tabelară. Când „ β ” – puterea statistică a comparației bilaterale este de 10,0%, atunci coeficientul $Z_{\beta}= 1,28$

f - Proporția subiecților care se așteaptă să abandoneze studiului din motive diferite

$$q = 1/(1-f), f=10,0\% (0,1).$$

Întroducând datele în formula s-a obținut:

$$n = \frac{1}{(1-0.1)} \times \frac{2(1.96+1.28)^2 \times 0.75 \times 0.25}{(0.60-0.90)^2} = 49 \quad (2.3)$$

Așadar pentru cercetare, valoarea reprezentativă a lotului nu trebuia să fie mai mică de 49 de pacienți, astfel în studiul dat au fost create două loturi: lotul de control 52 de pacienți, căruia i-a fost administrat un tratament parodontal clasic nechirurgical și lotul de studiu 44 de pacienți, căruia i-a fost administrat un tratament parodontal clasic nechirurgical, complementat cu ozonoterapia sistemică și topică [207].

Selectarea, diagnosticarea și tratamentul pacienților incluși în studiu s-a efectuat în clinica polifuncțională privată S.R.L. „GrandisMedozon” (str. Vlaicu Pîrcălab 15, Chișinău, R. Moldova). Implementarea elementelor fundamentale ale cercetării au fost puse în practică în aceeași clinică.

A fost elaborat un chestionar și stabilit un algoritm de diagnostic. Analizând etiopatogenia și tratamentul parodontitelor marginale cronice, prin prisma metodologiilor

complexe a diferitor autori, a fost elaborat un plan inovator de tratament în vederea soluționării mai eficiente a problemei.

Etapă II – Colectarea materialului

- Caracteristica pacienților incluși în studiu
- Chestionarea, examinarea clinică și complementară până și după tratament

La această etapă, pentru a îndeplini scopul și obiectivele propuse în acest studiu, au fost selectați pacienți femei și bărbați, cu diagnosticul de parodontită marginală cronică gravă (PMC gravă).

În studiul dat s-a utilizat clasificarea clinică a afecțiunilor parodontale (după T. Lemetskaya, 1983, 1998), adoptată cu unele modificări la Plenara a XVI-a unională a Societății științifice a Stomatologilor și recomandată pentru aplicare clinică, metodico-științifică și didactică [8, 31].

Clasificarea clinică a afecțiunilor parodontale (după T. Lemetskaya, 1983) [31]:

1. Gingivite – inflamarea gingiei, cauzată de efectele negative ale factorilor generali și locali care evoluează fără afectarea integrității atașamentului parodontal.
 - Forme: catarală, hipertrofică (edematoasă, fibroasă), ulcero-necrotică.
 - Severitate: ușoară, medie, gravă.
 - Evoluție: acută, cronică, acutizată.
 - Extindere: localizată, generalizată.
2. Parodontita - afecțiune a țesuturilor parodontale, caracterizată prin inflamație și formare a pungilor parodontale datorită distrugerii țesutului osos a septurilor interalveolare.
 - Severitate: ușoară, medie, gravă.
 - Evoluție: acută, cronică, acutizată (abcès), remisiune.
 - Extindere: localizată, generalizată.
3. Parodontoză - afecțiune distrofică a parodonțiului.
 - Severitate: ușoară, medie, gravă.
 - Evoluție: cronică, remisiune.
 - Extindere: generalizată.

4. Parodontoliză (afecțiuni idiopatice) – liza progresivă a țesuturilor parodontale. Sindroame și simptome ce se reflectă în țesutul parodonțiului - sindroamele Papillon-Lefevre, Ișenco-Cushing, Ehlers-Danlos, Cedric-Higashi, Down, histocitoza X, diabetului zaharat decompensat (tipul I), neutropeniei, agamaglobulinemiei.
5. Parodontoamele – afecțiuni tumorale și pseudotumorale ale parodonțiului. Epulisul, chistul parodontal evoluează localizat, cronic cu perioade de acutizare și fibromatoza gingivală evoluează cronic dar poartă un caracter generalizat.

Fiecărui pacient inclus în studiu i-a fost propus spre completare un chestionar-anchetă care a permis evaluarea mai detaliată a stării de sănătate orală, aprecierea factorilor etiologici și patogenici.

Examinarea pacienților cu PMC gravă s-a efectuat în dinamică până la tratament, nemijlocit după tratament și la intervale de 1, 3 și 6 luni de la tratament.

Etapa III – Prelucrarea informației

- Gruparea și sistematizarea materialului

În studiul dat, pentru realizarea scopului și obiectivelor, au fost folosite următoarele metode de cercetare:

- Metoda istorică – a constituit o reflectare a cronologiei obiective a fenomenelor, a dinamicii și a dezvoltării lor (un procedeu de cercetare evolutivă a relațiilor savanților la tema patologiei studiate);
- Metoda statistică – a alcătuit ansamblul metodelor și procedeele de culegere, prelucrare și analiză a datelor primare pentru testarea ipotezelor;
- Metoda de chestionar – a presupus o tehnică și un instrument de investigare, constând dintr-un ansamblu de întrebări scrise și imagini grafice, ordonate logic și psihologic care, prin auto-administrare, determină din partea celor anchetați, răspunsuri ce au fost înregistrate în scris;
- Metoda matematică – a constituit o metodă completă, riguroasă de studiere a fenomenului cercetat, baza deductivă și inductivă a permis formularea mai precisă a previziunilor științifice și descoperirea unor legi generale;
- Metoda analitică – a permis evaluarea ipotezelor de asociere dintre factorii de risc și parodontita marginală cronică;

- Metoda comparativă – a constituit o abordare metodologică prin analiza rezultatelor valorilor medii al variabilelor studiului din două loturi (cercetat și de control), din punct de vedere al rezultatelor intervențiilor.

Acumularea și gruparea datelor primare a fost efectuată ca rezultat al extragerii datelor din documentația medicală:

- Fișa medicală stomatologică;
- Chestionar (pentru îndeplinirea studiului a fost elaborat un chestionar-anchetă care a fost propus pacienților incluși în studiu pentru completare, ceea ce a permis evaluarea mai detaliată a stării de sănătate orală, aprecierea factorilor etiologici și patogenici, contribuind astfel la stabilirea simptomelor subiective și obiective)
- Formulare de analiză (până și după tratament)
- Date din literatura științifică de specialitate națională și internațională, din ultimii 15 ani.

Etapa IV – Analiza și evaluarea

- Prelucrarea matematico-statistică a materialului
- Veridicitatea cercetării

Datele acumulate au fost prelucrate la calculatorul individual. Analiza datelor a fost realizată utilizând programul Excel Microsoft Office 2011 și programul EpiInfo 7.1.3 cu ajutorul funcțiilor și modulelor acestor programe.

Veridicitatea cercetării efectuate a fost asigurată prin:

- Aplicarea metodelor, clinico-statistice și matematico-statistice în cercetarea eșantionului selectat și evaluarea rezultatelor obținute.

La prelucrarea statistică s-a aplicat un set de operații efectuate prin procedee și tehnici de lucru specifice:

- Sistematizarea materialului brut, realizat prin procedee de centralizare și grupare statistică, după parametri și niveluri, în urma cărora s-au obținut indicatorii primari și serii de date statistice
- Estimarea parametrilor și verificarea ipotezelor statistice, s-a efectuat folosind prin calcularea erorilor, criteriului „t” și gradului de veridicitate „p”

- Calcularea indicatorilor derivați în funcție de forma de repartizare cu excluderea valorilor excepționale
- Prezentarea datelor statistice s-a realizat prin procedee tabelare și grafice

Prelucrarea statistică a permis calcularea valorilor medii și a indicatorilor de proporție. Veridicitatea indicatorilor a fost determinată prin calcularea erorilor standard. Interpretarea s-a efectuat în felul următor: dacă valoarea lui "t calculat" era mai mare decât valoarea lui "t tabelar" atunci diferența între cele două valori medii sau între cele două probabilități era semnificativă din punct de vedere statistic.

"t calculat" > "t tabelar" = diferență **semnificativă** statistic. Dacă valoarea lui "t calculat" este mai mică decât valoarea lui "t tabelar", atunci diferența dintre cele două medii sau dintre cele două probabilități, este nesemnificativă din punct de vedere statistic.

"t calculat" < "t tabelar" = diferență **nesemnificativă**. Pentru exemplificare și verificare, în același timp, s-au luat aceleași exemple care au fost apreciate, sub aspectul semnificației diferenței și cu ajutorul erorii diferenței.

Etapa V – Elaborarea lucrării

Datorită procesului statistic interactiv, prelucrarea datelor s-a efectuat numai după evaluarea rezultatelor investigațiilor, iar analiza rezultatelor s-a finalizat prin elaborarea studiului dat. Rezultatele au fost exprimate în tabele și diagrame.

2.2 Criteriile de selectare a pacienților incluși în studiu

Prezența tartrului dentar, sângerarea gingiilor, dificultăți în masticatie, mobilitatea dinților, miros neplăcut al gurii, acestea sunt de obicei motivele apelării pacienților la medicul dentist.

Pe parcursul anilor 2005-2015, în cadrul clinicii polifuncționale private S.R.L. „GrandisMedozon”, din numărul pacienților care au solicitat servicii stomatologice au fost selectați pacienții diagnosticați cu parodontită marginală cronică formă gravă, cu vârsta cuprinsă între 41 și 73 de ani [207]. Pacienții supuși studiului, în număr de 96, au fost divizați în două loturi: lotul de control 52 de pacienți (32 femei și 20 bărbați) și lotul de studiu 44 de pacienți (27 femei și 17 bărbați) (Figura 2.1).

Toți pacienții au fost informați în privința studiului ce urma a fi efectuat și s-a obținut acordul lor de participare.

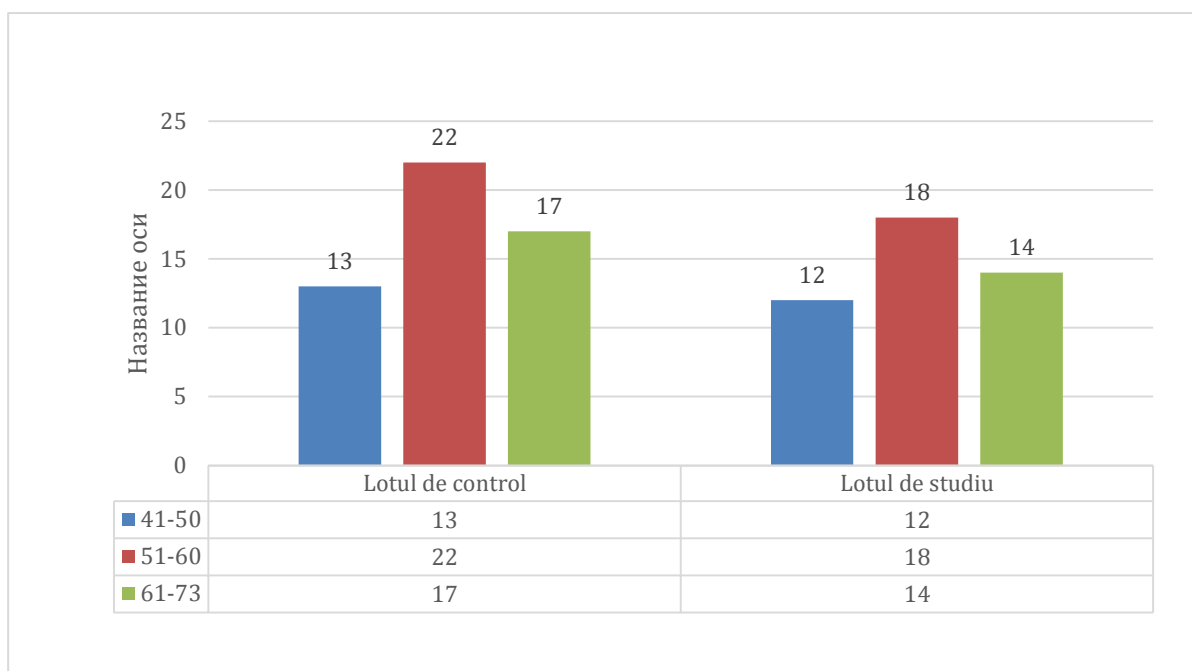


Fig.2.1. Repartiția pacienților pe grupe de vârstă

Pentru a obține date veridice în compararea rezultatelor tratamentului, pacienții din ambele loturi au fost selectați în baza criteriilor de includere-excludere.

Criteriile de includere:

- Diagnosticul de PMC gravă.
- Lipsa de tratament parodontal pe o durată de cel puțin 6 luni înainte de începerea studiului.

Criteriile de excludere:

- Parodontită marginală cronică superficială (PMCS).
- Alte afecțiuni inflamatorii sau degenerative ale CB.
- Diabet zaharat de tip I.

Toți pacienții prezentau sângerare gingivală, tartru dentar, eliminări purulente, durere și dificultate la masticăție, mobilitate dentară, PPr profunde, retractorii gingivale și gingivo-osoase, migrări patologice și miros fetid al gurii. Valorile PPr, cuprinse între 6 și 11 mm și tipul de resorbție osoasă de asemenea nu prezentau diferențe.

În general, tabloul clinic observat a corespuns celui descris în literatura de specialitate [8, 31], fiind caracteristic PMC grave. Similaritatea loturilor investigate, înainte de începerea studiului, a permis evaluarea prin comparare a eficienței celor două metode de tratament parodontal complex a PMC grave (clasică nechirurgicală și clasică nechirurgicală

complementată cu ozonoterapia sistemică și topică).

Simptomele și caracterele clinice de bază a pacienților din ambele loturi înainte de tratament nu prezentau diferențe semnificative (Tabelul 2.1.).

Tabelul 2.1. Simptomele si caracterele clinice ale pacienților din ambele loturi înainte de începerea studiului.

Nr.	Simptome clinice	Nr. pacienților în lotul de control	Valori în %	Nr. pacienților în lotul de studiu	Valori în %	Nr. total al pacienților	Valori în %
1.	Sângerări gingivale spontane și la periaj	52	100	44	100	96	100
2.	Durere și dificultate la masticatie	17	32,69	12	31,80	29	30,20
3.	Mobilitate dentară	52	100	44	100	96	100
4.	Retracție gingivală și afectarea gingivo-osoasa a bifurcațiilor și trifurcațiilor	52	100	44	100	96	100
5.	Pungi parodontale profunde, de 6 – 11 mm.	52	100	44	100	96	100
6.	Migrări patologice	52	100	44	100	96	100
7.	Miros fetid al gurii	33	63,46	25	56,81	58	60,41

2.3 Metode de investigare a pacienților

În scopul argumentării patogenice a utilizării oxigenului activ în forma sa alotropă în tratamentul complex al PMC grave, investigarea pacienților, a inclus colectarea anamnezei (îndeplinirea chestionarului), examinarea clinică, paraclinică și funcțională.

Baza de pornire, care ne apropie de stabilirea diagnosticului este anamneza. Elucidarea factorilor etiologici și apariția cronologică a simptomelor în procesul de dezvoltare a afecțiunii a contribuit la elaborarea unui algoritm nou de tratament nechirurgical.

Elaborarea chestionarului a permis facilitarea anamnezei în atingerea următoarelor obiective:

- Înregistrarea datelor personale și de contact ale pacientului
- Înregistrarea motivului prezentării
- Înregistrarea datelor anamnestice semnificative privind istoricul medical general și dentar al pacientului, obiceiurile, viciile și modul de viață
- Documentarea status-ului inițial al pacientului (examene clinice și complementare) în vederea precizării diagnosticului
- Sinteza tuturor datelor și elaborarea unui plan de tratament

Criterii de examinare

1. Examenul clinic al pacienților - în cadrul căruia s-a înregistrat statusul parodontal: indicele CPITN, indicele de sângerare papilară (PBI) – Saxer, Mühlemann (1975), fișa parodontală după modelul ZMK Bern.

2. Examenul radiografic (ortopantomografia).

3. Identificarea germenilor asociați parodontitei - Testul micro-IDent® plus 11, prin metoda *reacție de polimerizare în lanț (PCR) de tip multiplex cu detecție colorimetrică*.

Testul micro-IDent® face posibilă determinarea celor cinci markeri importanți parodontopatogeni: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus* și *Treponema denticola*. În unele cazuri de parodontită, spectrul de diagnostic poate fi lărgit prin determinarea altor 6 germeni: *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum/periodonticum*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum* și *Capnocytophaga spp.* (testul micro-IDent® plus 11).

4. Evaluarea nivelului sangvin al enzimei sistemului AO - superoxid dismutaza (SOD).

5. Evaluarea microcirculației sangvine în țesutul parodontal prin metoda fluxmetriei

laser-Doppler (LDF). S-a utilizat analizatorul laser-Doppler a vitezei fluxului sangvin capilar superficial LAKK-02, (SPE «LAZMA», Rusia).

Examinarea pacienților cu PMC gravă s-a efectuat în dinamică până la tratament, nemijlocit după tratament și la intervale de 1, 3 și 6 luni de la tratament.

Examene clinice

Determinarea stării CB a vizat aprecierea culorii mucoasei, densității, stării și formei papilelor interdentare, prezența tartrului, nivelului recesiunii gingivale la dinții frontali și afectării gingivo-osoasă a bifurcațiilor și trifurcațiilor dinților laterali, prezenței PPr și aprecierea adâncimii și conținutului lor, prezenței migrării patologice în special a dinților frontali.

O atenție deosebită s-a acordat traumei cronice a parodonțiului marginal și a celui de susținere care poate fi produsă de prezența leziunilor carioase, distrucțiilor coronare, obturațiilor debordante, anomaliilor de formă, abraziilor patologice, leziunilor cuneiforme, lipsei punctelor de contact, edentației parțiale și construcțiilor protetice confecționate necorespunzător și a stresului emoțional.

La determinarea adâncimii PPr s-a utilizat sonda butonată CPITN și sonda parodontală clasică. Pentru măsurarea pierderii de atașament s-a ales un reper fix: joncțiunea amelo-cementară la care s-au raportat măsurătorile luate de pe suprafețele dintelui.

Evaluarea statusului parodontal

Evaluarea statusului parodontal a fost efectuată în baza înregistrării indicilor clinici și întocmirii fișei parodontale.

Indicele CPITN

CPITN (indicele comunitar al necesarului de tratament a leziunilor parodontale) identifică BP, severitatea, cât și necesitatea tratamentului. S-a folosit sonda specială CPITN care este o sondă parodontală cu o bilă în vârf cu diametrul de 0,5 mm., ce prezintă gradații la 3,5 mm., 5,5 mm., 8,5mm. și 11,5 mm. Porțiunea cuprinsă între 3,5 mm. și 5,5 mm. este colorată în negru. Acest indice cuprinde 3 indicatori: hemoragia gingivală, prezența tartrului și prezența PPr. Dentiția este împărțită în 6 cadrane și anume: 1.7 - 1.4; 1.3 - 2.3; 2.4 - 2.7; 3.7 - 3.4; 3.3 - 4.3; 4.4 - 4.7.

1.7 - 1.4	1.3 - 2.3	2.4 - 2.7
4.7 - 4.4	4.3 - 3.3	3.4 - 3.7

După palpare cu sonda (Figura 2.2.), s-a înregistrat cadranul cu cea mai proastă condiție.

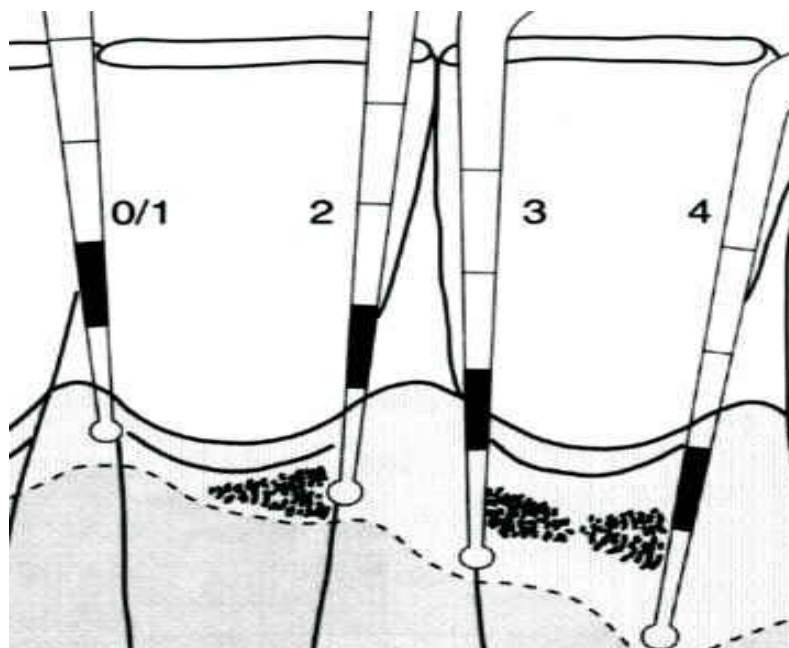


Fig.2.2. Palparea profunzimii PPr cu sonda CPITN.

De exemplu, dacă în regiunea dintelui 17 se depistează sângerare iar în regiunea dintelui 16 tartru dentar, se înregistrează indicele care corespunde tartrului dentar, adică – 2, astfel fiecărui cadran i s-a atribuit un cod, respectiv codul cu cea mai proastă condiție a corespuns valorii indicelui CPITN (Tabelul 2.2.):

Tab.2.2. Criterii de evaluare ale indicelui CPITN

COD	Status parodontal (CPI)	COD	Necesități de tratament (TN)
0	absența oricărui simptom, gingie sănătoasă		
1	porțiunea colorată a sondei rămâne perfect vizibilă în afara șanțului, sângerare provocată de sondaj deși gingia e aparent sănătoasă	I	educarea igienei bucale (OHI)
2	porțiunea colorată a sondei rămâne complet vizibilă în afara șanțului, prezența tartrului subgingival sau a factorilor de	II	I+detartraj (Scaling + OHI)

	microiritație cronică (carii, obturații debordante, lucrări protetice necorespunzătoare, resturi radiculare)		
3	porțiunea colorată a sondei este parțial vizibilă față de șanțul gingival, pungi de până la 5.5 mm	II	I+detartraj și planare radiculară (Root Planing + Scaling +OHI + îndepărtarea tuturor factorilor de microiritație cronică)
4	porțiunea colorată a sondei dispare complet la nivelul pungii parodontale, indicând pungi mai mari de 6 mm	III	I+II + tratament complex parodontal

Indicele de sângerare papilară (PBI) – Saxer, Mühlemann (1975)

Acesta este un indicator sensibil al severității inflamației gingivale și permite monitorizarea individuală de stare a parodonțiului prin aprecierea intensității sângerării papilare la sondare.

Sângerarea e provocată prin palparea sulcus-ului cu sonda parodontală cu presiune ușoară pornind de la baza papilei spre vârf de-a lungul aspectului mezial și distal al dintelui. După 20-30 secunde după ce a fost sondat complet un întreg cadran, se înregistrează intensitatea sângerării după cele 5 grade:

0 – absența sângerării la sondare;

1 – sângerare punctiformă, *20-30 secunde după sondare se observă un singur punct de sângerare;*

2 – linie, *se observă o linie fină de sângerare sau mai multe puncte de sângerare la marginea gingivală;*

3 – triunghi - *triunghiul interdental devine sângerând, în diferite grade;*

4 – picătură - *imediat după sondare sângele curge în zona interdentală, acoperind porțiuni de dinte sau gingie.*

Evaluarea s-a realizat în toate patru cadrane cu o sondă butonată parodontală clasică pentru a nu provoca traume gingivale. Cadrantul I, III s-a examinat palatinal și lingual, cadrantul II, IV s-a examinat vestibular.

Valorile s-au trecut pe fișă și indicele PBI s-a calculat după formula:

$$PBI = \frac{\text{punctajul}}{\text{Nr de papile examinate}} \quad (2.4)$$

Întocmirea fișei parodontale

Scopul fișei clinice parodontale este de a înregistra adâncimea pungii parodontale și nivelele de atașament în cele șase zone de pe suprafața dintelui sau implantului, în mm.

Adâncimea la sondare s-a măsurat cu sonda parodontală clasică. Pentru întocmire a fost aleasa fișa parodontală - Zahnmedizinische Kliniken der Universität Bern (ZMK) [12].

În cadrul acestei fișei parodontale s-au mai determinat următoarele valori:

- Valoarea medie a adâncimii la sondare, în mm.;
- Valoarea medie a nivelului de atașament, în %;
- Placa/tartru, în %;
- Sângerare la sondare, în %;

Înregistrarea indicilor clinici și întocmirea fișei parodontale s-a efectuat în dinamică până la tratament, nemijlocit după tratament și la intervale de 1 și 3 luni de la tratament.

Examenе complementare

Examen radiografic

Examenul radiografic este un element indispensabil în diagnosticul de afecțiune parodontală, care permite estimarea evoluției, caracterului, gradului intensității procesului patologic la grupuri diferite de dinți, aprecierea dinamicii afecțiunii și argumentarea metodelor de tratament.

Pentru obținerea unui tablou radiologic complet se recomandă utilizarea ortopantomografiei (tomografie panoramică), care permite obținerea imaginii structurilor anatomice dintr-un singur plan de profunzime, precise și fără suprapuneri al ansamblului scheletului facial pe un clișeu radiografic de format mare, eliminând imaginile celorlalte planuri.

Radiografia relevă următoarele schimbări în țesutul osos al oaselor maxilare: gradul distrucției osului alveolar, prezența focarelor de osteoporoză, prezența tartrului subgingival,

starea spațiului periodontal, starea zonei de furcație, prezența obturațiilor sau coroanelor debordante, particularitățile anatomice a arcadelor dentare.

În acest scop a fost aplicată ortopantomografia prin intermediul aparatului Computer Tomograf cu Fascicul Conic VATECH Pax-Flex 3D.

Introducerea tomografiei cu fascicul conic (CBCT) în domeniul stomatologiei a creat oportunități noi pentru utilizarea imagisticii tridimensionale ca instrument de diagnosticare și planificare a tratamentului pentru specialiștii diferitelor ramuri ale medicinei dentare precum implantologia, parodontologia, ortodonția și chirurgia orală maxilo-facială.

Computerul Tomograf cu Fascicul Conic (CBCT) este o tehnologie de ultima generație în domeniul imagisticii ce permite vizualizarea în plan tridimensional a zonelor scanate. Folosind un fascicul conic de raze X, scannerul CBCT are nevoie de o unică rotație în jurul pacientului pentru a prelua sute de imagini ale zonei de interes, acestea fiind apoi reconstruite cu ajutorul unui software de imagistică, în vederea obținerii modelului virtual 3D al pacientului [266]. Întreaga procedură este de durată foarte scurtă, iar gradul de expunere la radiații în cazul unei tomografii computerizate realizate cu CBCT este echivalentul unui status dentar complet RX.

În prezent, abordând tehnologia CBCT, se încearcă elaborarea unor sisteme radiografice 3D de evaluare all-in-one al statusului parodontal, care deja sunt foarte promițătoare. Oricum este nevoie de mai multă cercetare și dezvoltare [211, 266].

Examen de laborator

Identificarea germenilor asociați parodontitei

În placa subgingivală au fost identificate peste 500 de specii bacteriene care constituie o nișă ecologică complexă. Sub influența unor factori locali și sistemici unele bacterii din biofilmul dentar subgingival devin agenții etiologici primari ai BP. Aceste infecții polimicrobiene implică în majoritatea cazurilor patogeni parodontali Gram-negativi anaerobi care acționează sinergic. Cele mai frecvent implicate bacterii sunt: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus* (*Tannerella forsythensis*), *Treponema denticola*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Capnocytophaga spp.* [13].

Identificarea bacteriilor parodontopatogene a fost realizată pe baza testului micro-IDent® plus 11 (Figura 2.3.a.b.), care are la bază tehnica polimerizării în lanț (PCR) și prezintă o specificitate înaltă pentru identificarea celor unsprezece bacterii

parodontopatogene și stabilirea cantității lor relative [16]. Testele sunt de asemenea mai sensibile decât cultura bacteriană deoarece identifică germenii după ADN, indiferent de viabilitatea acestora (bacteriile anaerobe rezistă adesea foarte puțin în cursul transportului către laborator și culturile pot da rezultate false negative pentru patogenii parodontali [13].



Fig.2.3. (a.) Testul micro-IDent® plus 11.



Fig.2.3.(b.) Testul micro-IDent® plus 11.

Prelevarea probei (Figura 2.4.) s-a făcut cu ajutorul bețișoarelor sterile de hârtie conținute în trusa de recoltare, obligatoriu înaintea tratamentului mecanic sau medicamentos. Cu ajutorul unei pense sterile s-a introdus un bețișor în PPr până la baza acesteia (adâncimea PPr trebuie să fie de cel puțin 4 mm). Bețișorul a rămas pe loc timp de 10 sec., după care s-a retras și introdus într-un tub de transfer. Se pot recolta maxim 5 probe din PPr diferite. Toate bețișoarele provenite de la același pacient s-au introdus într-un singur tub de transfer. Tubul s-a plasat în trusa de recoltare, împreună cu fișa care conținea datele pacientului. Proba se refrigerează imediat și își menține stabilitatea 1 săptămâna la 2-8°C (213).



Fig.2.4. Prelevarea probei - testul micro-IDent® plus 11.

Stabilirea cantității relative a bacteriilor parodontopatogene s-a efectuat în felul următor: în cazul detecțiilor ADN pozitive, pentru fiecare bacterie patogenă rezultatul a fost raportat ca “slab pozitiv (33%)”, “pozitiv (66%)” și “intens pozitiv (99%)”. Aceste moduri de comunicare s-au corelat cu cantitatea de germeni identificați în probă (Tabelul 2.2.).

Cantitatea totală de germeni (CTG) s-a calculat după formula:

$$\text{CTG în (\%)} = \frac{\text{Nr. de (\%) acumulat}}{11 \text{ (Nr. de bacterii patogene)}} \quad (2.5)$$

Stabilirea cantității relative de germeni identificați în probă s-a efectuat prin introducerea datelor în formular (vezi Anexa 1.).

Evaluarea nivelului sangvin al enzimei sistemului AO – superoxid dismutaza (SOD)

Superoxid dismutaza (SOD) este o metaloenzimă antioxidantă implicată în sistemul de apărare împotriva speciilor reactive de oxigen (SRO). Ea catalizează dismutarea anionului superoxid (O_2^-) în oxigen și peroxid de hidrogen (H_2O_2), care apoi este catalizat în H_2O de GPx și catalază [21]. Acesta este un proces cu mai multe etape, care necesită un număr de cofactori metalici (“trace metal”- cupru, zinc, mangan și fier).

Acest antioxidant enzimatic, până nu demult, nu putea fi suplimentat oral, deoarece molecula proteică SOD este rapid scindată de mediul acid foarte dur și enzimele conținute în tractul digestiv [212, 263]. SOD se produce în organism dar scade odată cu înaintarea în vârstă.

Au fost identificate mai multe clase de (SOD):

- intracelulară:
 - forma citosolică, cupru-zinc SOD (Cu-Zn SOD/SOD1), neutralizează RL produși în urma activității metabolice din citoplasmă.
 - forma mitocondrială, mangan SOD (Mn SOD/SOD2), neutralizează RL produși în mitocondrii în urma creării energiei celulare.
- extracelulară, Cu-Zn SOD (EC SOD/SOD3).

Prezent atât în interiorul cât și în afara membranelor celulare, SOD este unul dintre sistemele primare interne de apărare antioxidantă al organismului și joacă un rol critic în reducerea stresului oxidativ implicat în dezvoltarea diferitor boli ce pun viața în pericol. Deși beneficiile SOD merg dincolo de simpla neutralizare al superoxid anionilor, amenințarea de expunere la anioni superoxid nu ar trebui subestimată. Anionii superoxid sunt puternic implicați în dezvoltarea a numeroase boli degenerative, inclusiv arterioscleroza, accidentul vascular cerebral, infarctul miocardic, afecțiuni inflamatorii acute și cronice, precum și diverse tulburări neurodegenerative legate de vârstă [181].

Studiile au arătat că SOD posedă un rol critic în reducerea inflamației interne și în diminuarea durerii asociate cu ea. De exemplu, studiile de la Universitatea din Pittsburg au demonstrat că supraproducția de SRO este asociată cu dezvoltarea unor condiții, implicate într-o gamă largă de afecțiuni, de la boli cardiovasculare, la tulburări neurologice și patologii pulmonare. Conform acestor studii, SOD este un candidat ideal pentru prevenirea daunelor celulare și tisulare inițiate de SRO, cum ar fi superoxid anionul [146].

Un alt studiu a remarcat că durerea cronică asociată cu inflamația, scade atunci când superoxid anionul este neutralizat [131]. Artrita este o altă condiție în care superoxid anionul

este implicat. Cercetătorii coreeni au demonstrat că SOD și GPx sunt semnificativ mai puțin active la pacienții cu poliartrită reumatoidă decât la grupul normal de control. De asemenea, aportul alimentar de antioxidanți a fost mai redus în grupul pacienților cu artrita decât în grupul de control [103].

Superoxid anionul, de asemenea, face ravagii prin reacția sa cu NO formând peroxinitritul, o altă moleculă extrem de reactivă, care ulterior induce daune celulare și tisulare. Peroxinitritul este implicat în mai multe boli, inclusiv accidentul vascular cerebral, boala Alzheimer, și arterioscleroza [239]. SOD s-a dovedit a fi foarte eficient în tratamentul inflamației colonice din colita indusă experimental la șoareci [237]. Tratamentul cu SOD scade SRO generate de stresul oxidativ și astfel, inhibă activarea celulelor endoteliale și interacțiunea leucocitelor cu celulele endoteliale [21]. Recent o echipă de cercetare a subliniat faptul că un nivel scăzut al SOD și al statusului total antioxidant poate juca un rol mult mai important decât creșterea izolată a nivelului total de colesterol sau trigliceride, în dezvoltarea arteriosclerozei [272]. Prin urmare, antioxidanții primari, cum ar fi SOD, sunt prima și cea mai importantă linie de apărare împotriva RL derivați din oxigen, cu potențial distructiv [136]. În calitate de metode de modulare a nivelului acestor antioxidanți pot fi terapiile noi, importante pentru tratamentul bolilor degenerative [18].

Evaluarea nivelului sangvin al enzimei sistemului antioxidant SOD s-a realizat pe baza analizei sangvine, prin metoda–fotometrică (cinetică). Sângele venos s-a recoltat într-un recipient de recoltare-vacutainer ce conținea EDTA ca anticoagulant (Figura 2.5. a, b), pe nemâncate. Proba de sânge se refrigerează imediat și își menține stabilitatea 7 zile la 2-8°C [21].



Fig.2.5. (a) Vacutainer ce conține EDTA ca anticoagulant; (b) Recoltarea sângelui venos.

Principiul metodei constă în inhibiția reducerii sării de tetrazolium nitroblue (NBT) în sistemul ce conține fenazinmetasulfat și NADH sub acțiunea SOD. În urma reducerii NBT se formează nitroformazan, care are o colorație albastră, intensitatea căreia este proporțională cantității de NBT redus. Gradul de inhibiție a formării acestui proces depinde de activitatea enzimei [21].

Evaluarea valorilor nivelului sangvin al enzimei SOD s-a făcut reieșind din valoarea de referință –1200-1800 U/g Hb.

Examenul funcțional

Modificările ce apar la nivelul microcirculației sangvine gingivale și parodontale, joacă un rol cheie în asigurarea troficității locale și sunt de o importanță majoră în patogeneza BP [17]. Măsurarea obiectivă și în timp real a perfuziei la nivelul microcirculației este posibilă prin metoda fluxmetriei cu laser - Doppler (LDF), utilizată pe scară largă în practica clinică. LDF este o metodă de diagnosticare non-invazivă, înalt informațională și suficient de sensibilă, cu o rezoluție înaltă de apreciere a gradului de modificare a circulației sangvine capilare în țesuturi, care permite evidențierea volumului de flux sangvin la nivel capilar, depistarea semnelor precoce de afectare a rețelei capilare, evaluarea metodelor și eficacității terapeutice abordate.

Primele studii legate de această tehnică au fost efectuate la începutul anilor '70, dar analiza și interpretarea datelor obținute era dificilă. Introducerea diferitelor inovații și adaptări au permis utilizarea clinică de rutină a acestei tehnici [2].

Principiul de funcționare a metodei LDF presupune următoarele aspecte: raza de lumină îndreptată spre țesut se dispersează pe componenții lui statici și dinamici. Modelul migrației fotonului și ciocnirea lui cu anumite eritrocite a fost elaborat detaliat de către Bonner (1981). Sondarea țesuturilor se face cu ajutorul laserului infraroșu heliu-neon [54, 61, 63]. Radiația monocromatică a undei laser reflectată de componenții statici ai țesutului nu-și schimbă frecvența, iar cea reflectată de particulele mobile își schimbă frecvența (efectul Doppler). Unda reflectată de eritrocite ajunge prin fibra optica de recepție la fotodetectorii din dispozitivul LD pentru o prelucrare ulterioară (Figura 2.6.). Intensitatea spectrului componente Doppler a semnalului reflectat, înregistrat cu ajutorul fotodetectorului, este determinată de concentrația în volumul dat de țesut a eritrocitelor și de viteza lor [56]. După prelucrare, se produce un semnal analogic proporțional cu valoarea perfuziei fluxului sangvin în patul microvascular - indice de microcirculație (M) [60].

Semnalul LDF înregistrat caracterizează calitativ fluxul sangvin în capilare, cu rezoluție

temporală = 100 ms (mărimea momentană a fluxului) și rezoluție spațială 1 mm (ceea ce constituie 1-1,5 mm³ de țesut). În felul acesta, LDF oferă o informație integrală, adusă la valoare medie, după un număr foarte mare de eritrocite de ordinul 3,5*10⁴, care se găsesc într-un moment în volumul de țesut măsurat (200 de microvase).

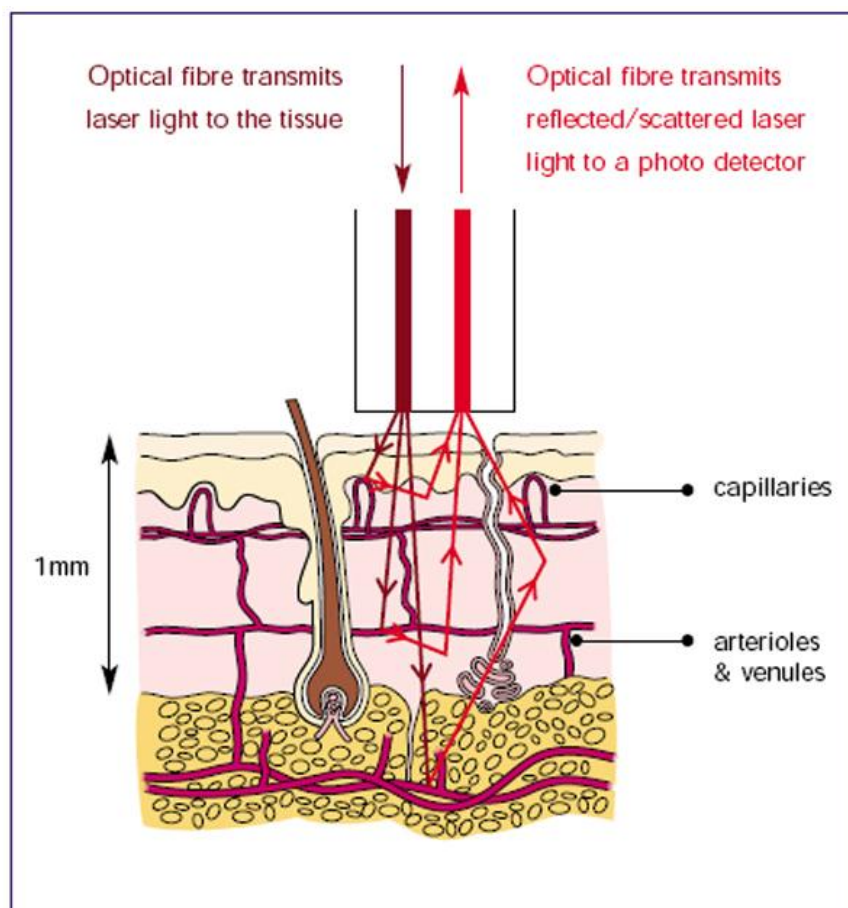


Fig.2.6. Sondarea țesutului cu laser infraroșu heliu-neon [108].

Evaluarea microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal

Evaluarea microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal s-a efectuat prin metoda fluxmetriei laser-Doppler (LDF), utilizând analizatorul laser LAKK-02, SPE «LAZMA», Rusia (Figura 2.7.a.b.).

Caracteristica integrală a fluxului sangvin capilar, înregistrată prin metoda LDF, reprezintă **indicele de microcirculație (M)**, măsurat în volți (V) sau exprimat în unități arbitrare de perfuzie (Blood Perfusion Units – BPU):

$$M = Ne \times Vm \quad (2.6)$$

unde:

Ne – numărul de celule roșii sangvine în mișcare în volumul de țesut sondat ($1-1,5 \text{ mm}^3$);

V_m – viteza medie pătratică a deplasării eritrocitelor;



Fig. 2.7. (a.) Analizatorul laser-Doppler al microcirculației sangvine LAKK-02, SPE «LAZMA», Rusia.



Fig. 2.7. (b.) Analizatorul laser-Doppler al microcirculației sangvine LAKK-02, SPE «LAZMA», Rusia, conectat la calculator.

Analiza computerizată se face cu ajutorul programului, care prevede calcularea parametrilor microcirculației. Software-lu LDF permite înregistrarea standard a dopplerogramei și analiza spectrală detaliată a componentelor de frecvență ale semnalului LDF, prin determinarea:

- (**M**) - media aritmetică a nivelului de microcirculație; exprimarea se face în unități arbitrare de perfuzie (Blood Perfusion Units – BPU);
- (**σ**) - deviația standard a amplitudinii de oscilație a fluxului sangvin, care caracterizează variabilitatea temporală a microcirculației sau variabilitatea debitului de celule roșii din sânge, menționată în semantica microvasculară ca "flux";
- (**Kv**) - coeficient de variație, raportul dintre flux și perfuzia tisulară care caracterizează activitatea vasomotorie microvasculară, în % ;

$$K_v = \sigma / M \times 100\% \quad (2.7)$$

În analiza standard al LDF - gramelor sunt determinate valorile medii statistice ale perfuziei sangvine tisulare. Pe lângă calculul caracteristicilor statistice ale fluxului eritrocitelor în țesuturi, dispozitivul LAKK-01 analizează și modificările ritmice ale fluxului [55].

Pe ecranul dispozitivului se afișează valoarea (M), exprimata în unități arbitrare de perfuzie (BPU), în același timp pe ecranul calculatorului se înregistrează imaginea grafică a LDF-gramei (Figura 2.8.a.).

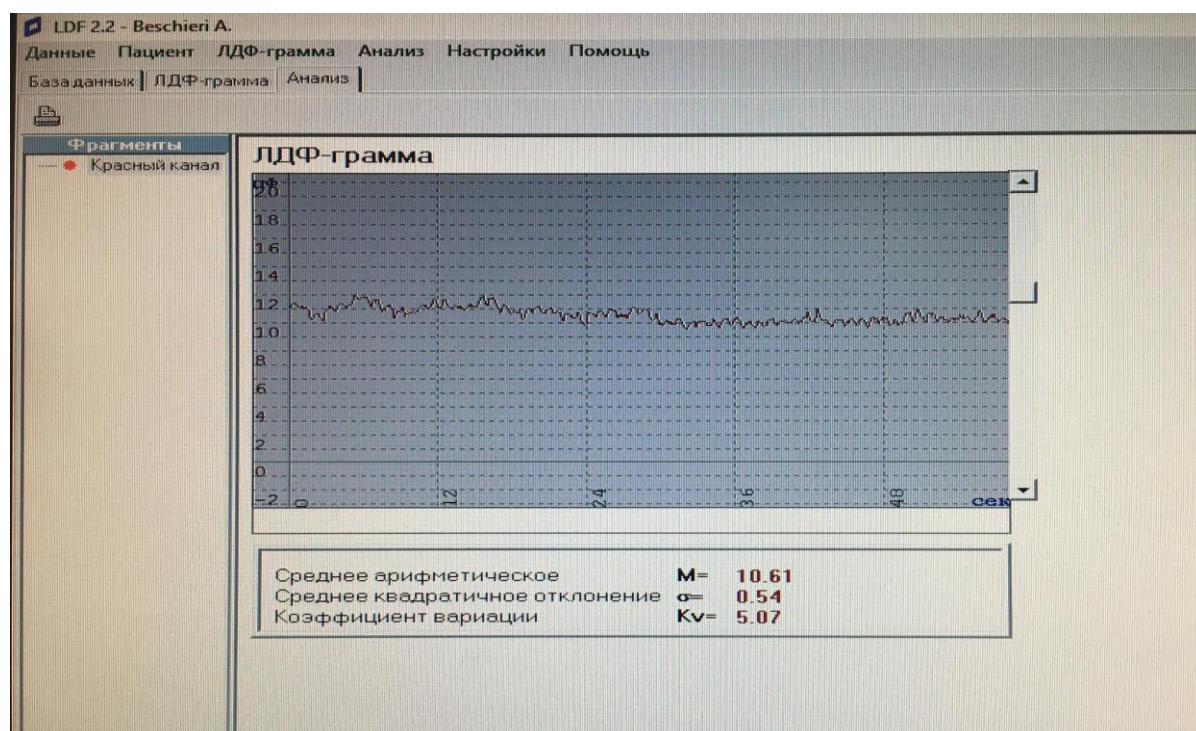


Fig.2.8. (a) Imaginea grafică a LDF-gramei.

În urma descompunerii spectrale a LDF – gramelor, în componente oscilatorii armonice, al fluxului sangvin tisular, devine posibilă diferențierea diferitor componente fluxmotrice (flux-motion), ceea ce este important pentru diagnosticul tulburărilor de modulare a fluxului sangvin (Figura 2.8.b). În analiza spectrală a LDF – gramelor, fiecare componentă ritmică este caracterizată de doi parametri: frecvență (F) și amplitudine (A).

Cele mai semnificative pentru diagnostic sunt:

- Unde lente fluxmotrice (LF) sau oscilații de frecvență joasă (banda de frecvență 0,02-0,2 Hz, 1,2-12 oscilații/min.);
- Unde rapide fluxmotrice (HF) sau oscilații de frecvență înaltă (banda de frecvență 0,2-0,4 Hz, 12-24 oscilații/min.);
- Unde pulsatorii fluxmotrice (CF) sau ritm cardiac (banda de frecvențe de 0,8-1,5 Hz, 50-90 oscilații/min.) [55];

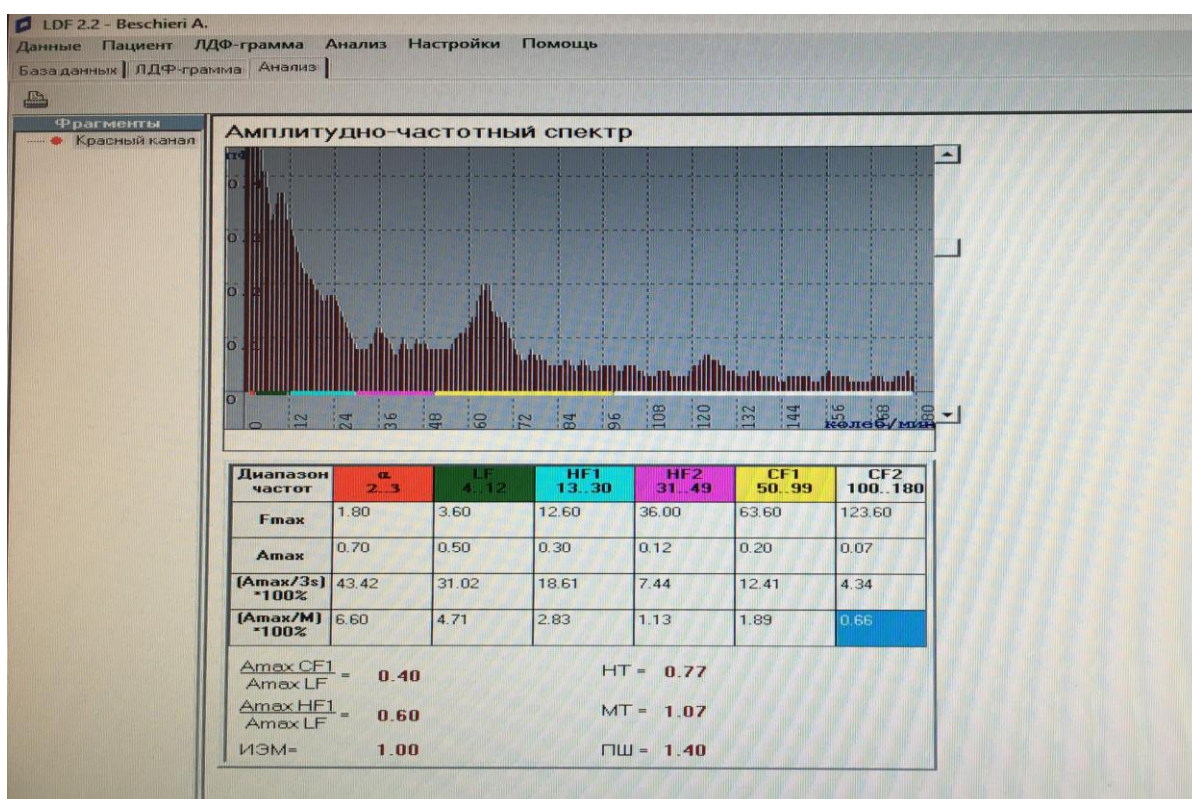


Fig.2.8. (b) Imaginea grafică a descompunerii spectrale a LDF-gramei în spectru de frecvență și amplitudine.

Mecanismul activ de modulare a fluxului sangvin în sistemul de microcirculație este determinat în principal de doi factori: activitatea miogenă și neurogenă precapilară vasomotorie [55].

- Activitatea miogenă sau vasomotrică este definită ca $\mathbf{ALF}/\sigma$, unde:
 $\mathbf{ALF}$ - amplitudinea maximă a oscilațiilor fluxului de sânge în banda de frecvență joasă ;
 (σ) - deviația standard a amplitudinii de oscilație al fluxului sangvin;
- Activitatea neurogenă sau a tonusul vascular este definită ca $\sigma / \mathbf{ALF}$;

Mecanismul pasiv de modulare a fluxului sangvin în sistemul de microcirculație este determinat de alți doi factori: fluctuații pulsatorii ale fluxului de sânge și fluctuații de frecvență înaltă ale fluxului de sânge [55].

- Fluctuații pulsatorii ale fluxului de sânge, sincronizate cu ritmul cardiac, sunt definite ca $\mathbf{ACF}/\sigma$, unde:
 $\mathbf{ACF}$ - amplitudinea maximă a oscilațiilor pulsatorii ale fluxului de sânge ;
- Fluctuații de frecvență înaltă, sincronizate cu ritmul respirator, sunt definite ca $\mathbf{AHF}/\sigma$, unde:
 $\mathbf{AHF}$ - amplitudinea maximă a oscilațiilor de frecvență înaltă ale fluxului de sânge ;

Caracteristica integrală a raportului dintre mecanismele activ și pasiv de modulare ale fluxului sangvin, este definită ca **IEM - indicele eficacității microcirculației** [60]:

$$\mathbf{IEM} = \mathbf{ALF} / \mathbf{AHF} + \mathbf{ACF} \quad (2.8)$$

Rezistența intravasculară se determină prin raportul:

$$\mathbf{ACF} / \mathbf{M}$$

În scopul evaluării microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal și obținerii unor înregistrări LDF stabile, s-au respectat condițiile de standardizare a măsurătorilor în timpul investigației. Investigarea microcirculației în țesutul parodontal s-a făcut în poziție așezat pe spate, într-o încăpere cu iluminare uniformă de intensitate medie la temperatura de 21-22°C, după un repaus fizic de cel puțin 10 minute și o stabilizare a hemodinamicii. Fiecărui pacient înainte de investigație i s-a măsurat tensiunea arterială cu un tensiometru clasic iar pulsul și saturația de oxigen din organism cu un pilsoximetru pentru deget.

În scopul evaluării cât mai integrale a fluxului sangvin capilar, înregistrarea indicilor

s-a efectuat în zona de gingie fixă în șase puncte: maxilă lateral dreapta, maxilă frontal, maxilă lateral stânga, mandibulă lateral dreapta, mandibulă frontal, mandibulă lateral stânga (ceea ce, după clasificarea OMS corespunde segmentelor 1, 2, 3, 4, 5, 6).

Din motivul lipsei oricărui dispozitiv de aplicare fixă și stabilă a sondei laser-Doppler în cavitatea bucală în timpul înregistrărilor LDF – gramelor (Figura 2.9.a.b.c.), ceea ce ar putea conduce la erori frecvente și la rezultate false, în cadrul studiului dat, pentru fiecare pacient în parte, s-a confecționat câte o amprentă a arcadelor dentare în ocluzie, în care s-a introdus, în dreptul fiecărui segment, câte un tub de ghidare pentru sonda laser - Doppler. La rândul său tubul de ghidare s-a confecționat dintr-o țeavă de cupru cu diametru exterior de 6 mm și lungimea de 10 mm. Tuburile de ghidare s-au grupat câte șase, s-au sigilat în folie și s-au sterilizat (Figura 2.9.d.)

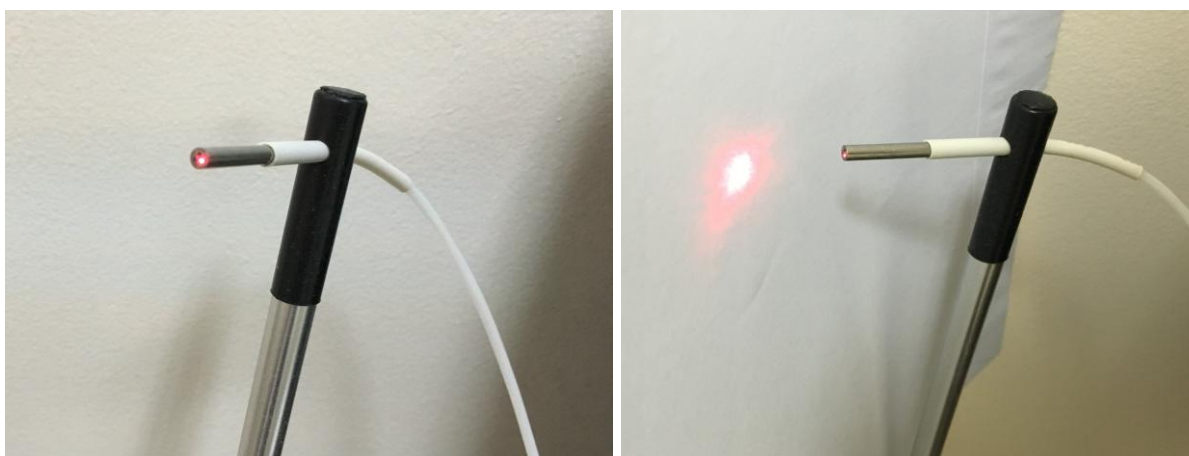


Fig.2.9. (a) Sonda laser-Doppler.

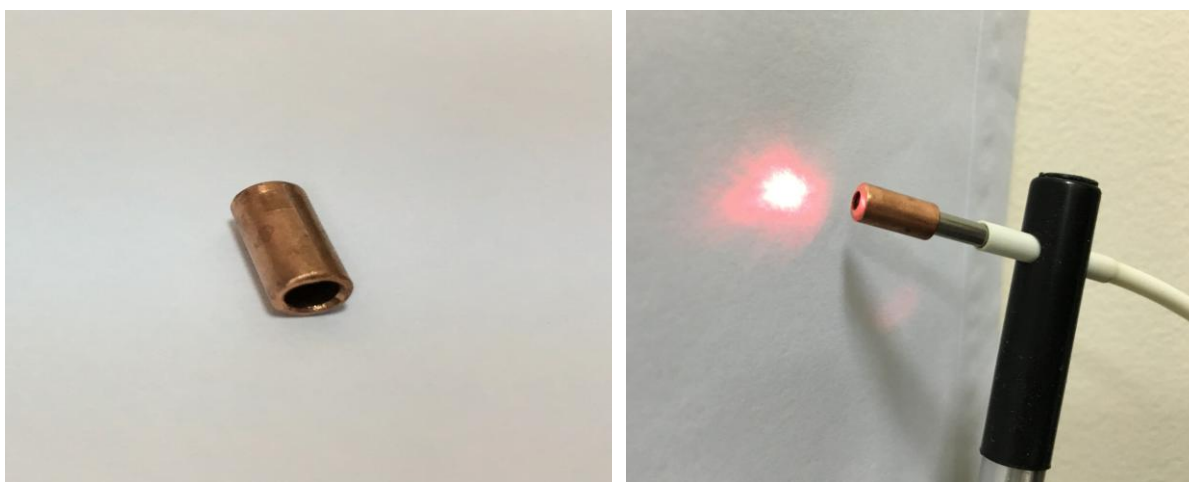


Fig.2.9. (b) Tubul de ghidare pentru sondă, (c) Sonda laser-Doppler și tubul de ghidare pentru sondă.

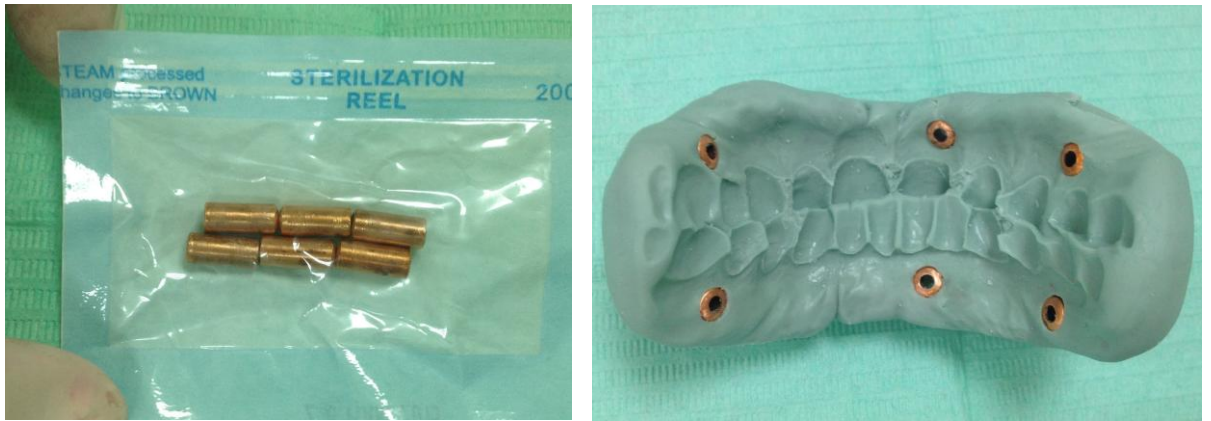


Fig.2.9. (d) Tuburi de ghidare grupate câte șase, sigilate în folie și sterilizate, (e) Amprenta arcadelor dentare în ocluzie, cu tuburi de ghidare pentru sonda laser-Doppler.

Sonda dispozitivului s-a aplicat prin tubul de ghidare în zona de gingie fixă, astfel s-a asigurat un contact etanș, fără presiune, al părții distale al sondei cu suprafața gingiei și s-a evitat suprimarea fluxului microcirculator prin contactul sondei cu suprafața gingiei (Figura 2.10.a.b.). Înregistrarea indicilor pe fiecare segment al gingiei a durat câte un minut.



Fig.2.10. (a.) Pacient A., aplicarea sondei laser-Doppler în CB pentru înregistrarea LDF – gramelor.

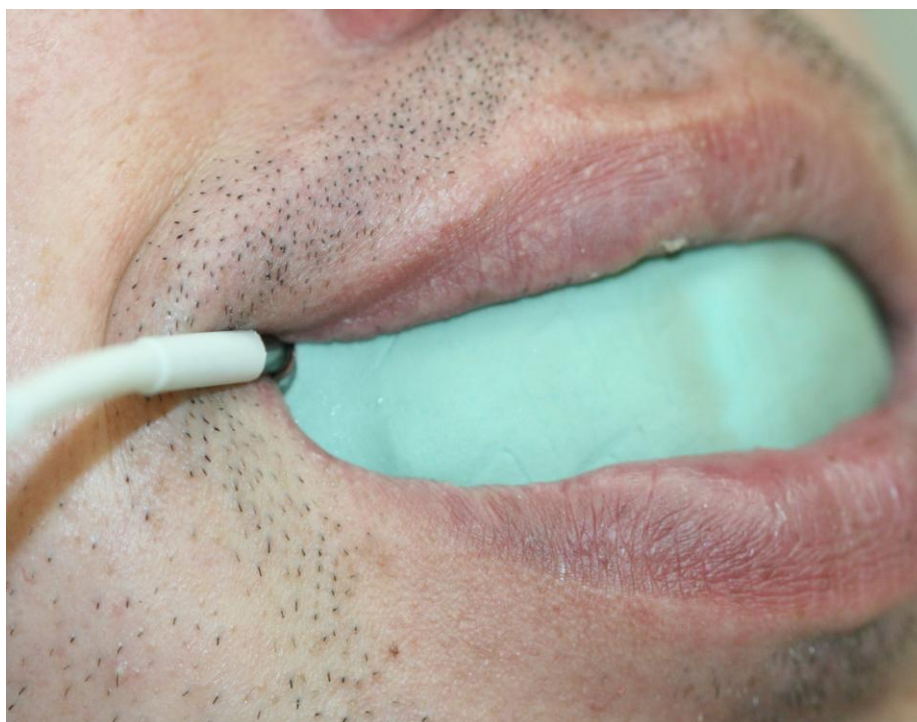


Fig.2.10. (b.) Pacient B. aplicarea sondei laser-Doppler în CB pentru înregistrarea LDF – gramelor.

În baza acestor metode au fost obținute 2 certificate de inovator.

- Certificat de inovator. Nr. 5507. Dispozitiv de aplicare a sondei laser-Doppler, în cavitatea bucală, pentru înregistrarea LDF-gramelor, din 18.05.2016.
- Certificat de inovator. Nr. 5509. Metodă de înregistrare a LDF-gramelor în cavitatea bucală, din 18.05.2016.

Stabilirea valorilor medii ale indicelui de microcirculație (M) și ale indicelui eficacității microcirculației (IEM), înregistrate pe fiecare segment al gingiei s-a efectuat prin introducerea datelor în formularul de analiză al LDF - gramelor (vezi Anexa 2.).

2.4 Metodele tratamentului complex al parodontitelor marginale cronice

Conform recomandărilor OMS (1980) în profilaxia afecțiunilor parodontale sunt evidențiate următoarele faze de tratament : primară, secundară și terțiară.

Faza primară are ca scop evidențierea grupurilor de risc, reducerea probabilităților apariției bolii prin eliminarea și controlul tuturor factorilor implicați. În prezent, accentul se pune pe educarea deprinderilor igienice, îndeosebi în colectivele preșcolare și școlare, pe învățarea regulilor de igienă a CB și controlul asupra respectării lor, pe alimentația rațională, pe asanarea la timp a focarelor cronice de infecție de localizare diversă, pe profilaxia bolilor organelor interne etc. [41].

Faza secundară cuprinde măsurile terapeutice tradiționale având ca obiect restaurarea funcției parodontale. Principiul tratamentului constă din măsuri locale și generale. Tratamentul local, la rândul său, se împarte în tratament conservator, chirurgical și fizioterapeutic.

Tratamentul conservator constă în asanarea CB – îndepărtarea plăcii bacteriene și a tartrului dentar, aplicarea locală de antiseptice și antibiotice, clătirea cu soluții, masaj gingival, etc. În pofida arsenalului bogat de preparate adecvate tratamentului conservator, efectul maxim de acțiune a lor se manifestă doar în stadiul precoce al îmbolnăvirii – gingivită, parodontită ușoară. De aceea, căutarea preparatelor adecvate, combinării lor optime și abordărilor noi în tratamentul BP trebuie continuată [36]. În cazul PMC medii și grave, metoda de bază rămâne tratamentul chirurgical: chiuretajul, criochirurgia, gingivotomia, electrochirurgia, gingivo-osteoplastia, laser-terapia ș.a. [42].

În ultimii ani, în domeniul tratamentului chirurgical s-au obținut anumite realizări. Utilizarea biovitroceramicii și aplicarea tehnologiilor de regenerare ghidată a țesutului osos constituie metodele principale de restabilire a structurilor parodontale. Utilizarea materialului sintetic în intervențiile chirurgicale, alegerea materialului, elaborarea indicațiilor pentru utilizarea lor, necesită studii mai aprofundate [7].

De asemenea devin tot mai evidențiate posibilitățile terapiei cu celule adulte stem ce contribuie la progresul ingineriei tisulare de regenerare parodontală. Pentru evaluarea în continuare a caracterizării celulelor stem dentare și eficacității terapeutice a tratamentelor parodontale regenerative pe baza de celule stem, trebuie efectuate studii suplimentare prin cercetări preclinice și clinice [202, 248].

Dintre metodele de tratament fizioterapeutic se aplică electrosunetul, masajul, electroterapia, magnetoterapia, fototerapia ș.a.

Faza terțiară sau de menținere vizează prevenirea și controlul evoluției bolii, prin reevaluări terapeutice.

Din măsurile generale fac parte: imunoterapia, vitamino – mineralo - terapie, antibioticoterapia, hormonoterapia, etc.

Metoda clasică nechirurgicală

După examenul clinic și complementar, pentru fiecare pacient în parte s-a elaborat planul de tratament luându-se în considerare statusul local, caracterul evoluției și vechimea îmbolnăvirii. În scopul pregătirii pacienților către tratamentul parodontal clasic nechirurgical, ambele loturi au fost informate privitor la importanța menținerii sănătății

parodontale astfel încât inflamația și continuitatea pierderii de atașament să poată fi evitată sau redusă la maxim. S-a accentuat asupra faptului ca igiena orala implică spălătul pe dinți de cel puțin 2 ori pe zi (dimineața și seara) timp de minim 3 min. și folosirea aței dentare cu regularitate ori/și a irigatorului dentar, precum și vizita la medicul stomatolog pentru controale de rutină și periaj profesional al dinților, o dată la 4 -6 luni. Pacienții au fost instruiți pentru efectuarea unui periaj circular (tehnica BASS) folosind periute de dinți clasice cu peri de duritate medie sau periute electrice, cu vibrații sonice care sunt mult mai eficiente în îndepărtarea plăcii bacteriene [156].

Pentru îndepărtarea propriu-zisă a plăcii bacteriene și a tartrului dentar supra și subgingival s-a utilizat instrumentar ultrasonic NSK – Multi Pad Varios 170 LUX, sub anestezie locală prin infiltrație. Resturile de tartru și placă au fost înlăturate prin Air-Flow utilizând aparatul de profilaxie cu bicarbonat NSK ProphyMate. Aparatul funcționează pe baza de aer comprimat care proiectează cu o presiune foarte mare, atât pe suprafețele dentare cât și în zonele interdentare și subgingivale, un jet filiform, constituit dintr-un amestec de apa / aer și particule abrazive de bicarbonat de sodiu.

Pe lângă acțiunea kineto abrazivă, bicarbonatul de sodiu posedă acțiune terapeutică datorită proprietăților sale benefice, inclusiv anti-inflamatoare, anti-fungice, antiseptice, și antibacteriene [141], de asemenea datorită masajului gingival eficient, se restabilește circulația de tip terminal. În majoritatea cazurilor sângerarea gingiilor și senzația de durere dispar după primele două zile.

Metoda ozonoterapiei

Toate metodele de tratament cu ozon medical sunt efectuate conform unor protocoale de lucru stabilite de Societățile de Ozonoterapie și sunt incluse în soft-ul de lucru al Generatorului de ozon medical, fapt care exclude posibilitatea unor erori de dozare a ozonului [20].

Generatoarele de ozon medical, precum și toate consumabilele de unică folosință utilizate pentru tratamentul cu ozon medical trebuie să îndeplinească directivele pentru echipamente medicale MDD (Medical Device Directive) din Europa (Directiva 93/42) și să fie etichetate cu semnul "CE" [215]. Ozonoterapia presupune mai multe metode de administrare.

În acest studiu, pacienților din lotul de studiu, pe lângă tratamentul parodontal clasic nechirurgical, le-a fost administrat ozonul medical aplicat sistemic, în formă de

autohemoterapie majoră (AHTM) și local, în formă de infiltrații (injecții) gazoase cu O_2/O_3 și aplicații topice de ulei ozonat semisolid.

Pentru generarea ozonului medical s-a utilizat aparatul universal medical - HERRMANN Apparatebau Medozon compact, folosit pentru aproape toată gama de ozon-terapie modernă (Figura 2.11.).



Fig.2.11. Aparatul de ozonoterapie Medozon compact, folosit pentru aproape toată gama de ozon-terapie modernă.

Metoda de administrare a ozonului medical cu acțiune sistemică

○ Generală:

• Autohemoterapia majoră (AHTM)

Pacientul se așază obișnuit și comod în poziția culcat pe spate, pe canapeaua medicală; se prelevă într-o sticlă vidată sterilă, în care inițial s-a introdus soluție de citrat de sodiu 3.13% (anticoagulant), o cantitate de sânge venos (50-100-150 ml) din vena cubitală și se amestecă cu o cantitate egală de ozon medical de o anumită concentrație, după care sângele este reperfuzat pacientului. Procedura nu prezintă nici un risc pentru pacient, este fără durere și durează în totalitate aproximativ 20-30 min. (Figura 2.12.a.b.).

Toți pacienții din lotul de studiu au urmat un curs de 6 ședințe de AHTM, o dată la trei zile.



Fig.2.12.(a.) Autohemoterapie majoră. Sistem standardizat în conformitate cu Directiva 93/42 CE; compus din: seringă rezistentă la ozon, filtru bacterian (0,2 um), sticlă vidată (sticlă), set de transfuzie [215].



Fig.2.12.(b.) Ședința de autohemoterapie majoră.

Având în vedere că majoritatea pacienților prezentau un anumit grad de dezechilibru al statusului antioxidant, concentrația inițială aleasă a ozonului medical a fost de 25 mg/mL O₂-O₃, urmată de o creștere treptată, cu 5 mg/mL O₂-O₃ la fiecare ședință ulterioară, până la concentrația de 35 mg/mL O₂-O₃.

- **Locală:**

- **Infiltrație submucoasă în CB**

(În baza metodei a fost înregistrat brevetul de invenție cu nr. MD 2327 G2 din 31.12.2003.)

Pacientul se așază obișnuit și comod în poziția așezat pe spate, pe scaunul stomatologic; într-o seringă de silicon de 50 ml rezistentă la ozon, se colectează ozon medical și se injectează câte 0.5 – 1 ml cu un ac de 30G ½ 0.3 x13 mm la limita dintre mucoasa fixă și cea mobilă, la fiecare al 3-lea -al 4-lea dinte, astfel încât să cuprindă în totalitate maxilarul superior și apoi inferior (Figura 2.13.a.b.).

Toți pacienții din lotul de studiu au urmat un curs de 6 infiltrații submucoase cu ozon medical cu o concentrație de 5 - 10 mg/mL O₂-O₃, o dată la trei zile [16].

Infiltrațiile submucoase de ozon în cavitatea bucală, erau percepute, mai mult sau mai puțin, ca dureroase, diferența fiind în gradul de inflamație locală și probabil pragul individual de sensibilitate la durere a fiecărui pacient în parte. Durerea care apărea în urma injectării submucoase a ozonului medical era de scurtă durată, deoarece ozonul medical având acțiune analgezică, anestezia la propriu zona în care era infiltrat. Totodată intensitatea durerii mai depinde și de concentrația ozonului medical.

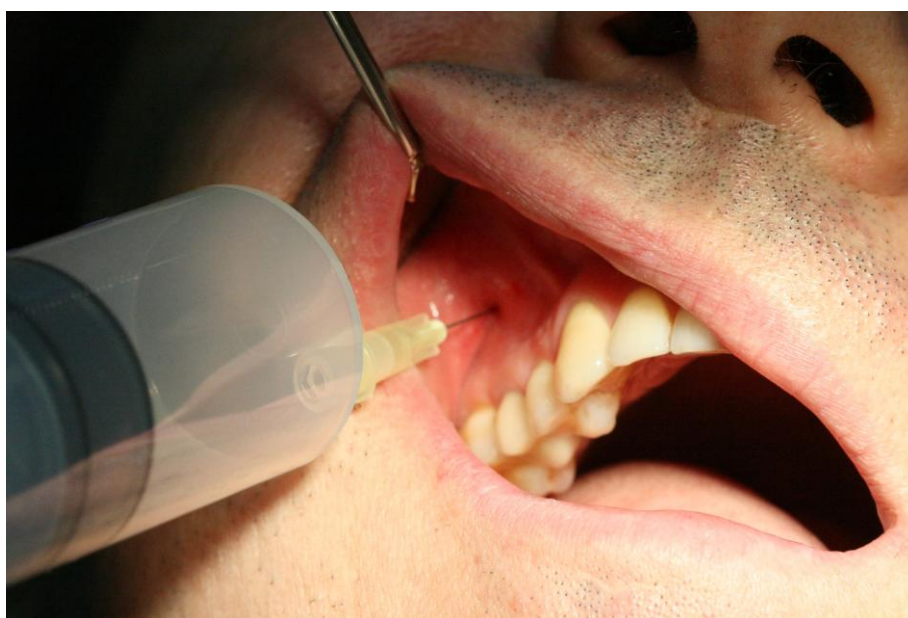


Fig.2.13.(a.) Administrare prin infiltrație submucoasă a ozonului medical în CB.



Fig.2.13. (b.) Administrare prin infiltrație submucoasă a ozonului medical în CB.

Metoda de administrare a ozonului medical cu acțiune topică

○ Aplicarea uleiului ozonat semisolid în CB

Unul din factorii cei mai limitrofi în utilizarea ozonului este stabilitatea scăzută în condiții naturale. O metoda de stabilizare și prelungire a timpului de acțiune al ozonului medical este dizolvarea lui în ulei vegetal.

Majoritatea uleiurilor vegetale conțin trigliceride în proporție de 97-98%. Compoziția de acizi grași saturați și nesaturați diferă în funcție de originea și natura lor [205]. Proprietățile benefice ale uleiurilor sunt atribuite, în mod special, cantității de acizi grași nesaturați.

Ozonul reacționează cu legăturile duble ai acizilor grași nesaturați [179, 220] și este utilizat pentru a scinda alchena sau a introduce funcționalități suplimentare de-a lungul lanțului [236].

În conformitate cu mecanismul de ozonoliză descris de Crigée în 1975 [98], tratarea uleiului vegetal cu ozon medical furnizează compuși ciclici numiți ozonide [163] sau 1, 2, 4 trioxolani și peroxizi (peroxizi polimerici și alți peroxizi organici) [194, 251], considerate cele mai importante produse responsabile pentru activitatea antimicrobiană și stimularea proprietăților de reparare și regenerare a țesuturilor [106, 271]. Probabil, atunci când ozonida stabilă vine în contact cu exudatul din leziune, ea se descompune încet în diferiți peroxizi,

fapt ce poate explica activitatea prelungită antimicrobiană și de stimulare a refacerii țesutului [140, 194, 252, 255].

Uleiurile vegetale ozonate, în dependență de gradul de ozonoliză, pot fi lichide sau semisolide. Cel mai frecvent la fabricarea ozonidelor și implicit a uleiului ozonat este folosit uleiul de măsline, cu toate acestea, există și alte uleiuri vegetale care conțin uleiuri omega. Fiecare ulei are o concentrație diferită de acizi grași omega 3, 6, 9 și concentrația fiecărui acid gras este calculată aparte, suma lor formând un număr final care se numește "**Indicele Potențial de Ozonide " (POI)** [163].

Formula de calcul:

$$\text{POI} = 3s \text{ Omega (x3)} + 6s \text{ Omega (x2)} + 9s \text{ Omega (x1)} \quad (2.9)$$

Uleiurile cu un procent mai mare de acizi grași rețin mai mult ozon, astfel se pot obține uleiuri ozonate cu diferite concentrații de ozonide și peroxizi, de exemplu uleiul de in, având POI = 221, reține cel mai mult ozon iar uleiul de măsline, având POI = 92, reține mediu ozon, astfel uleiurile ozonate pot fi clasificate după puterea de acțiune a ozonidelor și peroxizilor în "înalte", "medii" și "joase".

În alegerea uleiului un rol important îl joacă și capacitatea de absorbție a uleiului și modul în care interacționează cu tipul special de piele sau mucoasă, de exemplu, uleiul ozonat de in este rezistent la apă și se absoarbe foarte greu, iar uleiul ozonat de măsline se absoarbe foarte ușor.

Metoda de preparare și aplicare a uleiului ozonat semisolid:

(În baza metodei a fost înregistrat brevetul de invenție cu nr. MD 1019 Y din 31.03.2016.)

Pentru producerea uleiului ozonat semisolid utilizat în afecțiunile inflamatorii de natura bacteriană din CB, a fost aleasă o combinație dintre uleiul din semințe de in (în proporție de 30-60%) și uleiul din semințe de cânepă (în proporție de 40-70%). Substanțele active care se obțin sunt ozonide și peroxizi.

Procedura de preparare a uleiului ozonat semisolid conform brevetului:

- În vasul spălător gaze tip Dreshle se iau 20 ml de amestec de uleiuri.
- Vasul pentru răcire se umple cu 500 ml apă rece și se introduce în el vasul spălător gaze tip Dreshle, pentru a evita supra încălzirea uleiului în timpul barbotării.

- Se conectează butelia de oxigen medical la generatorul de ozon medical prin tuburi de teflon și se reglează presiunea la 2 bari.
- Se conectează vasul spălător gaze tip Dresele la generatorul de ozon medical prin tuburi de teflon.
- Se pornește generatorul de ozon și se barbotează uleiul cu 2.4g O₃ /hr, timp de 12 -24 ore fără pauză, timp necesar pentru transformarea completă a uleiului într-o spumă expandată, care după stabilizare devine o cremă gelatinoasă semitransparentă, mată, de culoare albă (Figura 2.14. a.).
- Se oprește barbotarea, se toarnă uleiul ozonat semisolid într-o seringă de silicon rezistentă la ozon și se plasează în frigider pentru păstrare (Figura 2.14.b.).
- Păstrarea la temperatura camerei (nu este recomandată) va reduce eficiența uleiului semisolid ozonat la 3-4 săptămâni; păstrarea în frigider (0 + 4°C) va menține eficiența uleiului ozonat semisolid pentru o perioadă lungă de timp (6 + luni), păstrarea în congelator este ideală pentru stocarea uleiului ozonat semisolid pe termen lung (ani) [199].



Fig.2.14.(a.) Prepararea uleiului ozonat semisolid.



Fig.2.14. (b.) Prepararea uleiului ozonat semisolid.

Toți pacienții din lotul de studiu au urmat un curs de 6 aplicații de ulei ozonat semisolid pe arcadele dentare. Pentru fiecare pacient în parte s-a confecționat în laboratorul dentar câte o gutieră individualizată (Figura 2.15.), care acoperea dinții și $\frac{1}{2}$ din gingia fixă. Uleiul ozonat semisolid s-a aplicat inițial în gutiere, apoi gutierele s-au aplicat pe arcadele dentare (Figura 2.16.a.b.), [16].

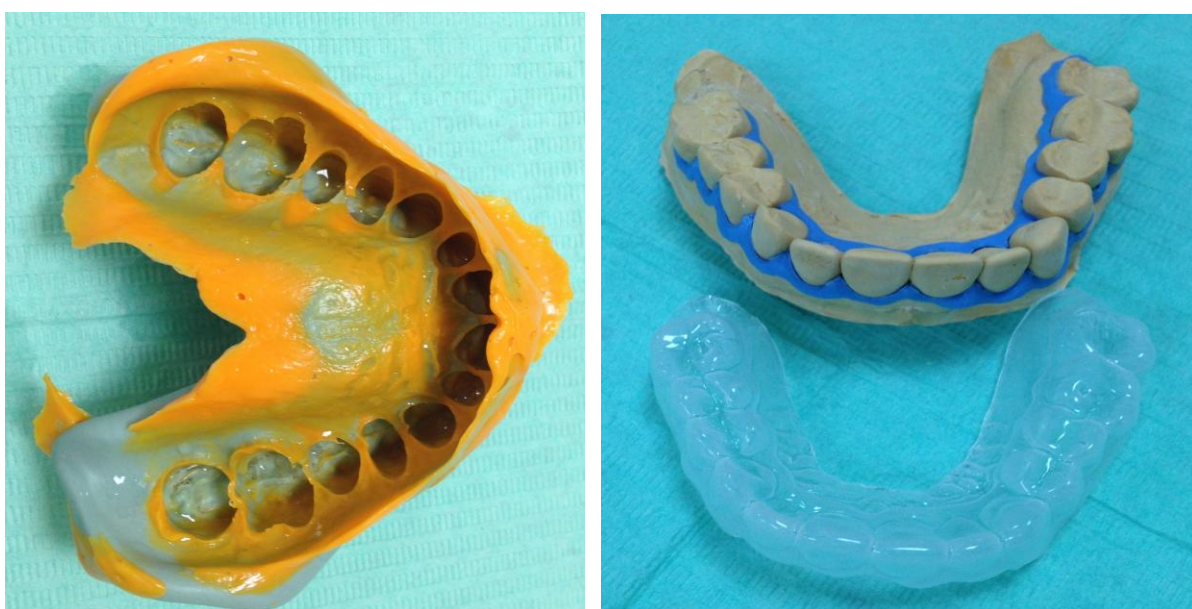


Fig.2.15. Confecționarea gutierelor individualizate.



Fig.2.16.(a.) Aplicarea uleiului ozonat semisolid în gutiere



Fig.2.16.(b.) Fixarea gutierelor pe arcadele dentare.

Gutierele se purtau timp de 15 – 30 min., după care se scoteau și CB se clătea cu apă.

2.5 Concluzii la capitolul 2

1. Elaborarea etapelor efectuării studiului dat a stat la baza metodologiei de efectuare a studiului.
2. Pentru a obține date veridice în compararea rezultatelor tratamentului, loturile investigate, înainte de începerea studiului (numărul pacienților, criteriile de includere-excludere, vârsta și sexul) au fost similare.

3. Pentru realizarea scopului și a obiectivelor propuse, în studiul dat au fost aplicate metode de investigare clinice și complementare, ceea ce a confirmat complexitatea patogenezei PMC grave și a oferit informații utile pentru elaborarea unui algoritmul terapeutic de aplicare a ozonului medical în tratamentul complex al PMC grave.
4. Reabilitarea funcțiilor aparatului dento-maxilar necesită realizarea unui tratament complet și complex, ce integrează toate specialitățile medicinei dentare. Metodele de aplicare a ozonului medical sunt sigure, simple și foarte eficiente. Complementarea metodelor clasice de tratament parodontal cu ozon medical aplicat sistemic și topic, permite crearea unor noi metode terapeutice pentru tratamentul complex al PMC.

3. MODALITĂȚILE DE EVALUARE COMPARATIVĂ FOLOSITE PENTRU ARGUMENTAREA PATOGENICĂ A UTILIZĂRII OZONULUI MEDICAL

Pentru argumentarea patogenică a utilizării ozonului medical, în studiul dat au fost utilizate următoarele modalități: evaluarea indicilor clinici, a radiografiilor, evaluarea microbiocenozei, al enzimei sistemului AO – superoxid dismutaza (SOD) și evaluarea microcirculației sanguine capilare în țesutul parodontal.

Evaluările s-au efectuat în dinamică, până la tratament, nemijlocit după tratament și la intervale de 1, 3 și 6 luni de la tratament.

3.1 Evaluarea comparativă a statusului parodontal în baza înregistrării indicilor clinici și întocmirii fișei parodontale

Determinarea stării CB, pe lângă examinarea obiectivă care a inclus aprecierea culorii mucoasei, densității, stării și formei papilelor interdentare, nivelul recesiunii gingivale, prezența tartrului și migrării patologice, a vizat stabilirea nevoii de tratament parodontal în funcție de situația clinică cu ajutorul indicelui CPITN și indicelui PBI– Saxer, Mühlemann (1975).

CPITN (indicele comunitar al necesarului de tratament al leziunilor parodontale) identifică BP, severitatea, cât și necesitatea tratamentului. La determinarea adâncimii PPr s-a utilizat sonda butonată CPITN. Pentru măsurarea pierderii de atașament s-a ales un reper fix: joncțiunea amelo-cementară la care s-au raportat măsurătorile luate de pe suprafețele dintelui. Adâncimea PPr la pacienții supuși studiului a fost cuprinsă între 6 mm și 11 mm, astfel statusului parodontal atribuindu-se codul 4 și stabilită necesitatea tratamentului complex parodontal.

Totodată au fost întocmite fișe parodontale utilizându-se modelul ZMK al universității din Berna (Elveția), accesat online (Figura 3.1.a.b.).

Fișa clinică parodontală permite înregistrarea valorilor medii a adâncimii PPr la sondare, în mm și valoarea medie a nivelului de atașament, în %, în cele șase zone de pe suprafața dintelui sau implantului. În cadrul acestei fișe parodontale se mai determină placa/tartru, în % și sângerarea la sondare, în %.

Măsurătorile s-au făcut cu sonda parodontală clasică.

FIȘA PARODONTALĂ

Data 12.06.15

Nume pacient

Begleta

Prenume Maria

Data nașterii 25.06.58

☒ Prima examinare ☐ Reevaluare

Clinician Andrei Pirgari

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Mobilitate		2		0	0	0	1	2		1	1	0	0	0	2	0
Implant																
Furcație																
Sângerare la sondare																
Placă																
Marginea gingivală	0	-1	0	0	0	0	0	0	0	-1	-1	0	0	0	0	0
Adâncimea la sondare	4	6	2	3	3	3	2	3	2	2	3	2	2	2	3	3

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Marginea gingivală	0	-1	0	0	0	0	0	0	0	-1	-1	0	0	0	0	0
Adâncimea la sondare	7	2	5	5	2	5	5	2	4	5	3	2	3	3	2	5
Placă																
Sângerare la sondare																
Furcație																
Observații																

Val. med. a adâncimii la sondare = 3.2 mm Val. med. a nivel. de atassment = 3.7 mm 86 % Placă 91 % Sângerare la sondare

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Observații																
Furcație																
Sângerare la sondare																
Placă																
Marginea gingivală	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-2	-1	-1	0	0	0	0	0
Adâncimea la sondare	2	7	3	3	4	5	2	2	3	3	1	2				

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Marginea gingivală																
Adâncimea la sondare																
Placă																
Sângerare la sondare																
Furcație																
Implant																
Mobilitate																

Fig.3.1.(a.). Fișa parodontală până la tratament. Modelul ZMK Bern.

www.periodontalchart-online.com/ro/

zmk bern
Zahnmedizinische Kliniken
der Universität Bern

Departamentul de Parodontologie

FIȘA PARODONTALĂ

Data 10.08.15

Nume pacient Begleta Prenume Maria Data nașterii 25.06.58

☐ Prima examinare ☒ Reevaluare Clinician Andrei Pirgari

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Mobilitate		2	0	0	0	0	1	2	1	1	0	0	0	2	0	
Implant																
Furcație																
Sângerare la sondare																
Placă																
Marginea gingivală	-2	-2	-2	-2	-2	-1	-2	-1	-2	-2	-3	-1	-2	-1	-2	-2
Adâncimea la sondare	4	6	2	3	3	3	2	3	2	2	2	2	2	2	3	3

Vestibular

Palatinal

	3	2	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2
Marginea gingivală	-3	-2	-3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-2	-2	-2
Adâncimea la sondare	7	2	5	5	2	5	5	2	4	5	3	4	3	2	5	5
Placă																
Sângerare la sondare																
Furcație																
Observații																

Fig.3.1.(b.). Fișa parodontală după tratament. Modelul ZMK Bern.

Severitatea inflamației gingivale a fost determinată cu ajutorul indicelui de sângerare papilară (PBI) – Saxer, Mühlemann (1975). Acest indice este un indicator sensibil ce permite monitorizarea individuală de stare a parodonțiului, prin aprecierea intensității sângerării papilare la sondare.

Rezultatele evaluării valorilor medii al indicelui PBI, din ambele loturi, au fost reflectate în Tabelul 3.1. [207].

Tabelul 3.1. Efectul ambelor tratamente asupra valorilor medii al PBI, între loturi până la tratament, după tratament, la 1 și 3 luni după tratament.

Indicele de sângerare papilară (PBI) – Saxer, Mühlemann (1975)	Lotul de control (n₀=52)	Lotul de studiu (n₁=44)	P_{1,0}
	M₀±ES₀	M₁±ES₁	
Valori până la tratament	3,113 ± 0,0374	3,354 ± 0,0633	<0,001
Valori până la tratament, în %	77,8 ± 0,93	83,8 ± 1,56	<0,01
Valori după tratament	0,369 ± 0,0066	0,276 ± 0,0164	<0,01
Valori după tratament, în %	9,4 ± 0,16	6,9 ± 0,40	<0,001
Valori după tratament la 1 lună	1,325 ± 0,0111	0,715 ± 0,0317	<0,001
Valori după tratament la 1 lună, în %	33,2 ± 0,28	17,9 ± 0,78	<0,001
Valori după tratament la 3 luni	2,74 ± 0,01	1,155 ± 0,0433	<0,001
Valori după tratament la 3 luni, în %	68,4 ± 0,31	28,9 ± 1,08	<0,001

3.2 Evaluarea radiografică a modificărilor parodontale

În acest scop a fost aplicată ortopantomografia care permite obținerea imaginii structurilor anatomice dintr-un singur plan de profunzime, precise și fără suprapuneri a ansamblului scheletului facial pe un clișeu radiografic de format mare, eliminând imaginile celorlalte planuri, prin intermediul aparatului Computer Tomograf cu Fascicul Conic VATECH Pax-Flex 3D.

Întreaga procedură este de durată foarte scurtă, iar gradul de expunere la radiații în cazul unei tomografii computerizate realizate cu CBCT este echivalentul unui status dentar complet RX.

Studierea radiografiilor a permis identificarea schimbărilor distructive în țesutul osos parodontal. S-a evaluat distrucția osului alveolar, definită ca distanța de la joncțiunea smalț-

cement până la nivelul crestei alveolare, lărgirea spațiului periodontal, prezența obturațiilor sau coroanelor debordante, prezența tartrului subgingival.

Analiza radiografică după tratament a indicat lipsa refacerii țesutului osos la ambele loturi (Figura 3.2.a.b.).

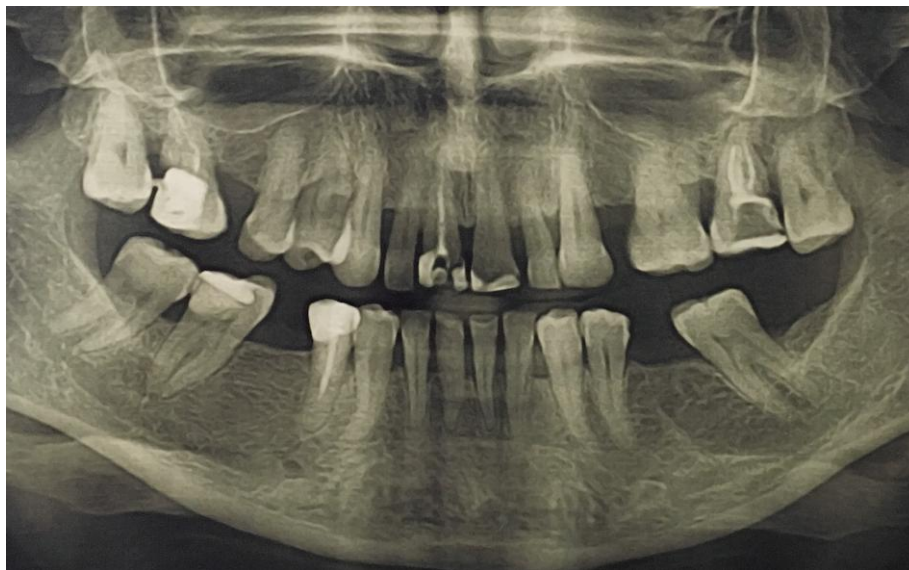


Fig.3.2.(a.). Pacientul A., ortopantomografia până la tratament.

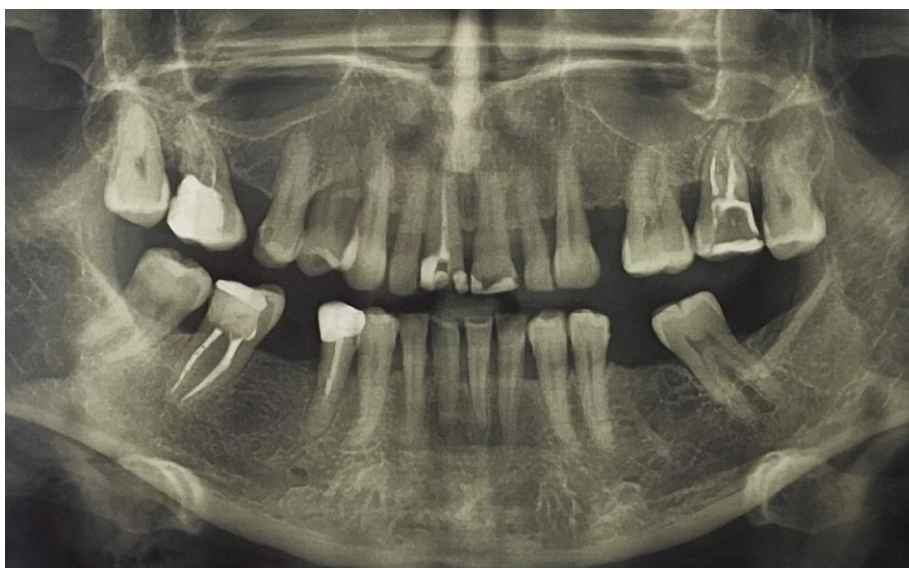


Fig.3.2.(b.). Pacientul A., ortopantomografia după tratament.

3.3 Evaluarea microbiocenozei

Un rol important în apariția afecțiunilor inflamatorii ale parodontiului îi revine factorului bacterian. Microflora CB în normă este reprezentată prin diverse specii de microorganisme. Este acceptat faptul că șanțurile gingivale și PPr conțin mari cantități de bacterii de diverse specii, că multe dintre ele sunt anaerobi obligatorii și se consideră că unele dintre ele declanșează procesul de îmbolnăvire, acționând asupra țesuturilor periodonțiului. Ele pot fi implicate în apariția afecțiunilor CB cum ar fi parodontopatiile care apar odată cu dezvoltarea disbiozei orale, atunci când se încalcă echilibrul normal dintre microflora benefică și cea patogenă [186].

Aceste infecții polimicrobiene implică în majoritatea cazurilor patogeni parodontali Gram - negativi anaerobi care acționează sinergic. Cele mai frecvent implicate bacterii sunt: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus* (*Tannerella forsythensis*), *Treponema denticola*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Capnocytophaga spp.* [13].

Studii recente au demonstrat prezența unor complexe și asocieri specifice între bacteriile patogene parodontale care se dezvoltă simultan cu deteriorarea sănătății orale a gazdei și sunt implicate în debutul și progresia bolii. Spre exemplu, a fost raportată o asocierie între *Bacteroides forsythus* și *C. rectus* în cazurile de parodontită agresivă [37]. De asemenea, primul complex, care a fost asociat cu BP este așa-numitul complex portocaliu, care constă din specii anaerobe Gram - negativi cum ar fi *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *P. nigrescens* și *Fusobacterium nucleatum* [195, 227]. Odată cu cronicizarea bolii, microbiota se mută la așa-numitul complex roșu, care constă din patogeni parodontali *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella Forsythia* și *Treponema denticola*, implicați puternic în fazele active distructive ale parodontitei cronice [245].

În prezent, asocierile specifice polimicrobiene patogene sunt considerate markeri ai activității afecțiunilor parodontale, însă diversă floră subgingivală complică determinarea tipului concret de microorganism care declanșează procesul de îmbolnăvire [180].

Evaluarea modificărilor cantitative de germeni asociați parodontitei

Testele micro-IDent® plus 11, folosite pentru identificarea bacteriilor parodontopatogene, au la bază tehnica polimerizării în lanț (PCR) și prezintă o specificitate înaltă pentru identificarea a unsprezece bacterii parodontopatogene și stabilirea cantității lor relative.

Testele sunt de asemenea mai sensibile decât cultura bacteriana deoarece identifică

germenii după ADN, indiferent de viabilitatea acestora (bacteriile anaerobe rezistă adesea foarte puțin în cursul transportului către laborator și culturile pot da rezultate fals negative pentru patogenii parodontali [13].

Rezultatele evaluării valorii medii a cantității totale de germeni, au fost reflectate în Tabelul 3.2. [207].

Tabelul 3.2. Rezultatul evaluării valorii medii a cantității totale de germeni, între loturi până la tratament, după tratament, la 1 lună și 3 luni după tratament.

Testul micro-IDent®plus11	Lotul de control (n ₀ =52)	Lotul de studiu (n ₁ =44)	P _{1,0}
	M ₀ ±ES ₀	M ₁ ±ES ₁	
Cantitatea totală de germeni până la tratament, în %	72,4 ± 0,81	72,9 ± 1,14	>0,05
Cantitatea totală de germeni după tratament, în %	64,1 ± 0,67	60,6 ± 1,00	<0,01
Cantitatea totală de germeni după tratament în scădere, în %	11,3 ± 0,35	16,7 ± 0,84	<0,001
Cantitatea totală de germeni la 1 lună după tratament, în %	76,4 ± 0,83	67,8 ± 1,08	<0,001
Cantitatea totală de germeni la 1 lună după tratament în creștere, în %	5,3 ± 0,60	0,0 ± 0,00	<0,001
Cantitatea totală de germeni la 1 lună după tratament în scădere, în %	0,0 ± 0,00	6,9 ± 0,35	<0,001
Cantitatea totală de germeni la 3 luni după tratament, în %	73,4 ± 1,07	73,1 ± 1,16	<0,05
Cantitatea totală de germeni la 3 luni după tratament în creștere, în %	0,93 ± 0,56	0,27 ± 0,42	<0,05

3.4 Evaluarea comparativă a valorilor nivelului sangvin al enzimei sistemului AO – superoxid dismutaza (SOD)

Radicalii liberi (RL) sunt atomi sau molecule ce conțin în structura lor unul sau mai mulți electroni liberi, ceea ce le determină instabilitatea [18]. RL încearcă încontinuu să devină stabili, obținând starea de echilibru prin cuplarea cu alte grupări electrofile ale altor participanți la reacții, transformându-i astfel în alți RL [19]. Factorii de mediu cum ar fi poluarea, radiațiile ionizate și UV, fumatul, alcoolul, toxinele și pesticidele pot produce RL. În corpul uman RL rezultă din unele procese metabolice.

Având o activitate crescută, RL distrug aparatul genetic al celulelor, împiedică funcționarea corespunzătoare a ADN-ului, atacă structura membranelor celulare, blochează enzimele și perturbă funcțiile fiziologice [19], acestea conducând în final, la dezvoltarea numeroaselor boli degenerative, inclusiv arterioscleroza, accidentul vascular cerebral, infarctul miocardic, afecțiunile inflamatorii acute și cronice, diverse tulburări neurodegenerative precum și la o îmbătrânire prematură [181].

Datorită prezenței oxigenului în atmosferă și aproape în toate substanțele care compun organismul, interacțiunea RL cu oxigenul este inevitabilă, creând-se astfel specii reactive de oxigen (SRO).

Superoxid dismutaza (SOD) este o metaloenzimă antioxidantă, componentă a sistemului antioxidant împreună cu GPx și catalaza, implicată în sistemul de apărare împotriva SRO. Ea catalizează dismutarea anionului superoxid (O_2^-) în oxigen și peroxid de hidrogen (H_2O_2), care apoi este catalizat în H_2O de GPx și catalază [21]. Nivelul SOD tinde să scadă odată cu vârsta, ceea ce favorizează formarea și creșterea cantității de RL.

Beneficiile SOD merg dincolo de simpla neutralizare al superoxid anionilor, studiile au arătat că SOD joacă un rol critic în reducerea inflamației interne și diminuării durerii asociate cu ea. Studiile de la Universitatea din Pittsburgh demonstrează că supraproducția de SRO este asociată cu dezvoltarea unor condiții, implicate într-o gamă largă de afecțiuni, de la boli cardiovasculare, la tulburări neurologice și patologii pulmonare. Conform acestor studii, SOD este un candidat ideal pentru prevenirea daunelor celulare și tisulare inițiate de SRO, cum ar fi superoxid anionul [146].

Un alt studiu a remarcat că durerea cronică asociată cu inflamația, scade atunci când superoxid anionul este neutralizat [131]. Superoxid anionul, de asemenea, face ravagii prin reacția sa cu oxidul de azot formând peroxinitritul, o altă moleculă extrem de reactivă care ulterior induce daune celulare și tisulare. Peroxinitritul este implicat în mai multe boli, inclusiv accidentul vascular cerebral, boala Alzheimer și arterioscleroza [239]. SOD s-a

dovedit a fi foarte eficient în tratamentul inflamației colonice din colita indusă experimental la șoareci [237].

Prezent atât în interiorul cât și în afara membranelor celulare, SOD este unul dintre sistemele primare interne de apărare antioxidantă a organismului și joacă un rol critic în reducerea stresului oxidativ implicat în dezvoltarea unor boli ce pun în pericol viața.

Scopul evaluării nivelului sangvin al SOD la pacienții cu PMC gravă incluși în studiu, a fost stabilirea comparativă a nivelului acestei enzime până și după tratamentul administrat, rezultatele fiind reflectate în Tabelele 3.3. și 3.4. [207].

Tabelul 3.3. Rezultatul analizei valorii medii al nivelului sangvin al enzimei SOD, între loturi până la tratament, după tratament, la 1 lună, la 3 luni și la 6 luni după tratament.

Enzima SOD	Lotul de control (n₀=52)	Lotul de studiu (n₁=44)	P_{1,0}
U/g Hb	M₀±ES₀	M₁±ES₁	
valori normale până la tratament	1733,0±7.53	1781,6±1,82	<0,001
valori crescute până la tratament	1927,14±9.42	1970,94±17,73	<0,001
valori scăzute până la tratament	1142,0±4.78	1086,67±9,81	<0,001
valori normale după tratament	1705,5±7.98	1674,76±10,47	<0,001
valori crescute după tratament	1916,6±9.08	1905,86±14,15	>0,05
valori scăzute după tratament	1146,75±2.38	0,0±0,00	<0,001
valori normale după tratament 1 lună	0,0±0,00	1634,83±23,23	<0,001
valori crescute după tratament 1 luna	0,0±0,00	1870,0±11,78	<0,001
valori normale după tratament 3 luni	0,0±0,00	1574,67±10,83	<0,001
valori normale după tratament 6 luni	0,0±0,00	1513,0±21,48	<0,001

Tabelul 3.4. Rezultatul evaluării comparative a valorii medii a nivelului sangvin al enzimei SOD, între loturi până la tratament, după tratament, la 1 lună, la 3 luni și la 6 luni după tratament.

Enzima SOD	Lotul de control (n ₀ =52)		Lotul de studiu (n ₁ =44)		P _{1,0}
	Abs.	P ₀ ±ES ₀	Abs.	P ₁ ±ES ₁	
valori normale până la tratament, în %	6	11,53±4,43	5	11,36±4,78	>0,05
valori crescute până la tratament, în %	42	80,76±5,36	36	81,81±5,82	>0,05
valori scăzute până la tratament, în %	4	7,69±3,69	3	6,81±3,79	>0,05
valori normale după tratament, în %	6	11,53±4,43	37	84,09±5,51	<0,001
valori crescute după tratament, în %	42	80,76±5,47	7	15,9±5,51	<0,001
valori scăzute după tratament, în %	4	7,69±3,69	0	0,0±0,00	<0,05
valori normale după tratament 1 lună, în %	0	0,0±0,00	42	95,45±3,14	<0,001
valori crescute după tratament 1 lună, în %	0	0,0±0,00	2	4,55±3,14	>0,05
valori normale după tratament 3 luni, în %	0	0,0±0,00	44	100±0,00	<0,001
valori normale după tratament 6 luni, în %	0	0,0±0,00	44	100±0,00	<0,001

3.5 Evaluarea modificărilor indicilor microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal

Evaluarea stării funcționale și a modificărilor ce apar la nivelul microcirculației sangvine gingivale și parodontale, joacă un rol cheie în asigurarea troficității locale și sunt de o importanță majoră în patogeneza BP.

Monitorizarea în timp real a perfuziei la nivelul microcirculației este posibilă prin metoda fluxmetriei cu laser - Doppler (LDF). LDF este o metodă de diagnosticare non-invazivă, înalt informațională și suficient de sensibilă, cu o rezoluție înaltă de apreciere a gradului de modificare a circulației sangvine capilare în țesuturi, care permite evidențierea volumului de flux sangvin la nivel capilar, depistarea semnelor precoc de afectare a rețelei capilare, evaluarea metodelor și eficacității terapeutice abordate.

Principiul de funcționare a metodei LDF este bazat pe efectul Doppler și presupune următoarele aspecte: raza de lumină îndreptată spre țesut se dispersează pe componenții lui statici și dinamici [54, 61, 63]. Radiația monocromatică a undei laser reflectată de componenții statici ai țesutului nu-și schimbă frecvența, iar cea reflectată de particulele mobile își schimbă frecvența. Unda reflectată de eritrocite ajunge prin fibra optică de recepție la fotodetectorii din dispozitivul LD pentru o prelucrare ulterioară. Intensitatea spectrului componente Doppler a semnalului reflectat, înregistrată cu ajutorul fotodetectorului, este determinată de concentrația în volumul dat de țesut a eritrocitelor și de viteza lor [56].

Sondarea țesutului parodontal a fost realizată utilizând analizatorul laser - Doppler LAKK-02, Rusia, având în dotare un laser infraroșu ce oferă o informație integrală despre fluxul sangvin în 1-1,5 mm³ de țesut. Analiza computerizată al LDF- grafiilor a fost realizată utilizând programul, care prevede calcularea parametrilor microcirculației. Pe lângă calculul valorilor medii ale fluxului eritrocitar, s-au analizat și modificările ritmice ale fluxului sangvin.

În analiza spectrală a LDF-gramelor, fiecare componentă ritmică se caracterizează prin doi parametri: frecvență (F) și amplitudine (A) [60].

Mecanismul activ de modulare a fluxului sangvin în sistemul de microcirculație este determinat în principal de doi factori: activitatea miogenă și activitatea neurogenă precapilară vasomotorie [55].

Mecanismul pasiv de modulare a fluxului sangvin în sistemul de microcirculație este determinat prin alți doi factori: fluctuații pulsatorii ale fluxului sangvin și fluctuații de frecvență înaltă ale fluxului sangvin [55].

Caracteristica integrală a raportului dintre mecanismele activ și pasiv de modulare ale fluxului sangvin se definește ca indicele eficacității microcirculației (IEM) [60].

Statusul perfuziei sangvine în țesutul parodontal a fost evaluat în baza nivelului de microcirculație (M) și al indicelui eficacității microcirculației (IEM).

Scopul evaluării modificărilor indicilor microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal la pacienții din ambele loturi, a constat în analiza comparativă a valorilor medii M și IEM sangvine capilare în țesutul parodontal, până și după tratamentul administrat, rezultatele fiind reflectate în Tabelele 3.5. și 3.6. [207].

Tabelul 3.5. Rezultatul evaluării valorii medii a nivelului de microcirculație (M) sangvină capilară în țesutul parodontal, între loturi până la tratament, după tratament, la 1 și 3 luni după tratament.

Nivelul de microcirculație (M)	Lotul de control ($n_0=52$)	Lotul de studiu ($n_1=44$)	$P_{1,0}$
	$M_0 \pm ES_0$	$M_1 \pm ES_1$	
valori până la tratament	10,72 $\pm$ 0,13	10,31 $\pm$ 0,11	<0,05
valori după tratament	11,78 $\pm$ 0,15	11,91 $\pm$ 0,14	>0,05
valori după tratament 1 lună	10,87 $\pm$ 0,14	12,66 $\pm$ 0,17	<0,001
valori după tratament 3 luni	0,0 $\pm$ 0,00	11,79 $\pm$ 0,16	<0,001
valori în creștere după tratament, în %	9,96 $\pm$ 0,29	15,48 $\pm$ 0,72	<0,001
valori în creștere după tratament 1 lună, în %	1,42 $\pm$ 0,08	22,52 $\pm$ 1,11	<0,001
valori în creștere după tratament 3 luni, în %	0,0 $\pm$ 0,00	14,32 $\pm$ 1,05	<0,001

Tabelul 3.6. Rezultatul evaluării valorii medii ale indicelui eficacității microcirculației (IEM) sangvine capilare în țesutul parodontal, între loturi până la tratament, după tratament, la 1 și 3 luni după tratament.

Indicele eficacității microcirculației (IEM)	Lotul de control (n₀=52)	Lotul de studiu (n₁=44)	P_{1,0}
	M₀±ES₀	M₁±ES₁	
valori până la tratament	1,09±0,01	1,13±0,03	>0,05
valori după tratament	0,88±0,02	1,42±0,02	<0,001
valori după tratament 1 lună	1,07±0,01	1,35±0,04	<0,001
valori după tratament 3 luni	0,0±0,00	1,26±0,04	<0,001
valori în scădere după tratament, în %	20,92±0,61	0,0±0,00	<0,001
valori în creștere după tratament, în %	0,0±0,00	26,61±1,32	<0,001
valori în scădere după tratament 1 lună, în %	1,4±0,08	0,0±0,00	<0,001
valori în creștere după tratament 1 lună, în %	0,0±0,00	18,61±1,41	<0,001
valori în creștere după tratament 3 luni, în %	0,0±0,00	10,82±1,24	<0,001

3.6 Concluzii la capitolul 3

1. Înregistrarea indicilor clinici și a întocmirii fișei parodontale, a permis evaluarea și monitorizarea în dinamică a eficienței tratamentului parodontal aplicat la ambele loturi.
2. Analiza radiografică după tratament a indicat lipsa refacerii țesutului osos la ambele loturi.
3. Testul micro -IDent® plus 11, a permis evaluarea valorii medii a cantității totale de germeni, între loturi până și după tratamentul parodontal aplicat.
4. Nivelul sangvin crescut al SOD a arătat că, supraproducția de SRO implicate în dezvoltarea unor condiții și boli degenerative, este asociată cu PMC gravă. Reducerea stresului oxidativ joacă un rol critic în tratamentul complex al PMC grave.
5. Analiza comparativă prin metoda LDF a rezultatelor obținute la pacienții diagnosticați cu PMC gravă, a permis identificarea unor caracteristici specifice ale statusului perfuziei sangvine în țesutul parodontal.

4. PARTICULARITĂȚILE FACTORILOR PATOGENI ÎN BOALA PARODONTALĂ. ANALIZA COMPARATIVĂ A REZULTATELOR OBTINUTE

4.1 Particularitățile factorilor patogeni în boala parodontală

Datorită cunoștințelor actuale privind natura bacteriană a proceselor inflamator - distructive parodontale, o largă răspândire a căpătat utilizarea preparatelor antibacteriene, îndreptate spre micșorarea patogenității microorganismelor din placa microbiană [37, 50, 157].

Șanțurile gingivale și pungile parodontale (PPr) conțin mari cantități de bacterii de diverse specii. Multe dintre ele sunt anaerobi obligatorii și se consideră că unele dintre ele declanșează procesul de îmbolnăvire acționând asupra țesuturilor periodonțiului. Ele pot fi implicate în apariția afecțiunilor CB cum ar fi parodontopatiile care apar odată cu dezvoltarea disbiozei orale atunci când se încalcă echilibrul normal între microflora benefică și cea patogenă [186]. Factorii cei mai importanți în crearea simbiozei sunt: capacitatea de infectare, invazivitatea și patogenitatea [62].

Patogenitatea, însă, nu este o caracteristică a microbilor, ci un posibil rezultat al interacțiunii cu organismul în anumite condiții. De menționat că, atât componenta cantitativă, cât și cea calitativă a microflorei normale a omului sănătos este destul de stabilă. Fenotipul microecologic al omului se formează sub influența particularităților genotipice și a factorilor de mediu [82].

Unii autori susțin că sursa principală, capabilă să pătrundă prin epiteliul șanțului gingival și să inițieze inflamația țesutului parodontal, sunt enzimele și endotoxinele bacteriene [37, 38, 104, 129]. Agresivitatea microflorei parodontopatogene este legată de prezența în membrana bacteriană a enzimelor proteolitice și a endotoxinelor. Cea mai mare parte dintre bacteriile situate în PPr sunt anaerobi Gram - negativi, care produc o cantitate mare de endotoxine [52]. Enzimele microbiene produc depolimerizarea glicozaminoglicanilor din masa de bază a parodonțiului, ca urmare devine posibilă invazia endotoxinelor în țesutul parodontal [50, 170]. Glicozaminoglicanii au un rol important în funcția de protecție a epiteliului gingiei, în special ce privește pătrunderea infecțiilor și toxinelor în țesut [158, 270].

În literatura de specialitate din ultimii ani se recunoaște existența microflorei parodontopatogene, care cuprinde, în principal, anaerobi Gram - negativi, actinomicete și grupul *Bacteroides (Prevotella)* [37], care este considerat agent etiologic al multor maladii, cum ar fi endocardita, osteomielita și periodontitele juvenile locale (PJJ). S-au efectuat, de

asemenea, câteva cercetări detaliate privind bacteriologia gingivitelor ulceronecrotice acute (GUNA) care, se presupunea că, sunt cauzate de fuzo-bacterii și spirochete.

În cadrul altui studiu, la microscopia a 22 de frotiuri, s-a depistat o mare cantitate de *Treponema* (32%) și *Seletonas* (6%), *Bacteroides (acum Prevotella) intermedius* (24%) și *Fusobacterium spp.* (3%) [184]. O atenție deosebită s-a acordat microorganismelor frecvent întâlnite *Porphiromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* [226]. De obicei *Actinobacillus actinomycetemcomitans* se asociază cu parodontita agresivă localizată, *Porphiromonas gingivalis* este considerat agentul etiologic major al parodontitei cronice.

Conform altor teorii, dezvoltarea parodontitei este determinată de *Actinomyces israeli*, *A. viscosus*, mai ales dacă apare sângerarea gingivală [258] și de o cantitate mare de *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*, *Fusobacterium nucleatum*, speciile *Lactobacillus*, *Streptococcus anginosus*, *Veilonella parvula* și speciile de *Treponema* (au fost identificate 166 tipuri și subtipuri de bacterii în 96 de probe) [259]. Un impediment major pentru înțelegerea naturii infecțiilor parodontale este faptul că agenții patogeni nu acționează singuri în biofilm. În schimb, proprietățile lor biochimice și fiziologice sunt modificate prin interacțiunile lor cu alți membri ai comunității biofilmului. În acest sens, toate infecțiile parodontale au o etiologie diversă polimicrobiană [196].

În completarea acestor autori mai vin și studii care demonstrează existența unui raport direct între sănătatea întregului organism și starea de sănătate orală [36, 142, 171], impunându-se eliminarea tuturor infecțiilor orale, inclusiv a celor care provoacă gingivită și parodontită, ca fiind esențială în restabilirea stării generale de sănătate [97, 151].

Totodată cercetările noi se axează tot mai mult pe rolul foarte important care îi revine răspunsului imuno-inflamator al organismului, susceptibilitatea gazdei fiind o condiție obligatorie în declanșarea BP [157]. Reacția la agresiunea bacteriană este declanșată printr-un mecanism specific care este influențat de predispoziția genetică a fiecărui individ în parte [162]. De mai mulți ani cercetările imunogenetice încearcă identificarea unor asocieri între apariția BP și existența unor gene relevante. Identificarea genelor se bazează pe analiza cercetărilor asupra genotipului BP, studiile au demonstrat că parodontita este asociată cu niveluri ridicate de citokine pro-inflamatorii interleukina 1 (IL-1) și factorul de necroză tumorală alfa (TNFalfa), reglatorii cheie în cadrul răspunsului imun al gazdei la infecții microbiene. IL-1 este, de asemenea, un modulator major al catabolismului matricei extracelulare și al resorbției osoase [173, 198]. Specialiștii susțin că acești markeri genetici

specificali, care au fost asociați cu creșterea IL-1, sunt un indicator puternic al susceptibilității la apariția procesului inflamator care stă la originea distrucției tisulare [67, 93, 204].

Studii recente au demonstrat prezența unor complexe și asocieri specifice între bacteriile patogene parodontale care se dezvoltă simultan cu deteriorarea sănătății orale a gazdei și sunt implicate în debutul și progresia bolii. Primul complex, care a fost asociat cu BP este așa-numitul complex portocaliu, care constă din specii anaerobe Gr (–) cum ar fi *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *P. nigrescens* și *Fusobacterium nucleatum* [195, 227]. Odată cu cronicizarea bolii, microbiota se mută la așa-numitul complex roșu, care constă din patogeni parodontali *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella Forsythia* și *Treponema denticola*, implicați puternic în fazele active distructive ale parodontitei cronice [245]. În prezent, asocierile specific polimicrobiene patogene sunt considerate markeri ai activității afecțiunilor parodontale, însă diversă floră subgingivală complică determinarea tipului concret de microorganism care declanșează procesul de îmbolnăvire [180].

Comunitățile complexe polimicrobiene se dezvoltă și formează o placă bacteriană [177, 180]. Alături de bacterii, în placă se găsesc celule epiteliale și leucocite. Acestea sunt distribuite într-o matrice extracelulară care conține proteine, polizaharide și lipide provenite din salivă și produși de metabolism bacterian. Componenta anorganică a plăcii este reprezentată de calciu și fosfați, de proveniență salivară și din lichidul gingival crevicular. Creșterea componentei anorganice duce la transformarea plăcii în tartru [137]. În tartrul dentar se localizează masa principală a microorganismelor cavității bucale, 70% din tartrul dentar constituindu-le microbii. Acumularea excesivă de tartru dentar, indiferent de tipul de bacterii pe care îl conține prezintă un factor favorizant local major în apariția afecțiunilor parodontale [16, 245].

Totodată, un rol de predispoziție pentru dezvoltarea fenomenelor inflamatorii, în parodonțiu, îl joacă nu numai condițiile optime pentru apariția tartrului dentar, dar și perturbarea microcirculației care conduce la dezvoltarea hipoxiei tisulare cronice, rolul acesteia în patogenizarea afecțiunilor parodontale fiind demonstrat în numeroase studii [59, 65, 84, 94, 208]. Instalarea și progresarea stării de hipoxie conduce la acumularea de radicali liberi, ceea ce determină transformarea proceselor aerobe (mai ales în metabolismul glucidelor) în procese anaerobe și drept consecință, acumularea, în special, de acid lactic și piruvic conducând la apariția acidozei metabolice în regiunea patogenă. Concomitent, se remarcă o scădere a pH-ului ceea ce caracterizează gradul de hipoxie [33]. Răspunsul rapid la apariția inflamației din partea enzimelor respiratorii, necesari proceselor reparatorii este brusc diminuat, fapt ce poate servi ca semn de manifestare timpurie a schimbărilor necrotice

în țesut. Modificările ce apar la nivelul microcirculației sangvine gingivale și parodontale, joacă un rol cheie în asigurarea troficității locale și sunt de o importanță majoră în patogeniza bolii parodontale. Toate acestea creează condiții favorabile de dezvoltare a bacteriilor parodontopatogene [62].

Perturbarea metabolismului în țesutul osos al apofizei alveolare, provocată de factori endo- și exogeni, contribuie la dezvoltarea schimbărilor distrofice în apofiza alveolară, pe fondul cărora microorganismele își pot realiza potențialul lor agresiv [66], ceea ce favorizează creșterea vitezei de resorbție osteoclastică, scăderea activității osteoblastelor cu apariția dezechilibrului dintre resorbție și apozitie [24, 85], intensificarea proceselor catabolice și diminuarea biosintezei, în special a bazei organice a țesuturilor parodontale, fapt ce duce la distrugerea tuturor elementelor acestui complex [52, 86].

La bolnavii de parodontită generalizată care prezintă exudat purulent în PPr, mobilizarea potențialului bactericid al mononuclearilor și neutrofilelor este semnificativ redusă, fiind însoțită de intensificarea activității enzimelor de protecție antioxidantă (superoxid dismutaza și catalaza), dar care nu reușesc să înlăture intensificarea proceselor de peroxidare a lipidelor [71]. Schimbările ultrastructurale profunde ale celulelor plasmactice în dinamica parodontitei cronice se află în raport direct cu gradul de gravitate al îmbolnăvirii, evidențiind rolul important al perturbărilor imunologice în cazul patologiei date [93].

Cu toate acestea, studii noi au completat această paradigmă [218] și au demonstrat că, pe lângă etiologia bacteriană și imunologică alți factori, cum ar fi co - infecții bacteriene - virale, factori genetici și de mediu contribuie la apariția și dezvoltarea parodontitelor [27, 39, 50, 87, 88, 183, 195]. Microbul, ca atare, nu constituie cauza bolii [62], doar în interacțiune cu macroorganismul el poate deveni una din cauze [73]. În afecțiunile parodontiului, multe microorganisme, potențial patogene, se găsesc permanent atât în sectoarele sănătoase cât și în cele afectate și în majoritatea cauzelor microflora plăcii dentare nu are capacitatea de a pătrunde în epiteliu și în țesutul conjunctiv adiacent [73].

Un alt factor de risc foarte important care este scos tot mai mult în evidență este: formarea radicalilor liberi (RL) [19, 144, 253], care provin din mediul interior (fagocitoză, catabolismul incomplet, producerea de energie, etc.) și din mediul exterior (stresul [166, 233], tabagismul, alcoolismul, aerul poluat, alimentele procesate, unele tipuri de medicamente, etc.)

Radicalii liberi (RL) sunt atomi sau molecule ce conțin în structura lor unul sau mai mulți electroni liberi, ceea ce le determină instabilitatea. RL încearcă încontinuu să devină stabili, obținând starea de echilibru prin cuplarea cu alte grupări electrofile ale altor

participanți la reacții, transformându-i astfel în alți RL [18, 19]. Având o activitate crescută, RL distrug aparatul genetic al celulelor, împiedică funcționarea corespunzătoare a ADN-ului, atacă structura membranelor celulare, blochează enzimele și perturbă funcțiile fiziologice [19], acestea conducând în final, la dezvoltarea a numeroase boli degenerative, inclusiv arterioscleroza, accident vascular cerebral, infarct miocardic, afecțiuni inflamatorii acute și cronice, diverse tulburări neurodegenerative, precum și la o îmbătrânire prematură [181].

Datorită prezenței oxigenului în atmosferă și aproape în toate substanțele care compun organismul, interacțiunea RL cu oxigenul este inevitabilă, creându-se astfel specii reactive de oxigen (SRO). SRO sunt una din cauzele principale în patogenia diferitor boli degenerative din care afecțiunile parodontale cronice fac parte [18].

Având în vedere cele expuse mai sus, alegerea unui tratament adecvat pentru tratarea PMC devine mult mai dificilă.

Scopul acestui studiu a fost de a investiga eficacitatea oxigenului activ în forma sa alotropă (ozonul medical) la pacienții cu PMC gravă, alegerea fiind ghidată de acțiunea ozonului medical asupra organismului uman, care este diversă și multidirecțională. Ozonul medical posedă efect antimicrobian, antioxidant, imunomodulator, [113, 265] antihipoxic, de dezintoxicare, antiviral, antifungic, analgezic, miorelaxant, stimulează procesele metabolice și îmbunătățește proprietățile reologice ale sângelui [51, 268].

În ultimul timp datorita creșterii incidenței infecțiilor asociate pe fondul scăderii răspunsului imuno-inflamator al organismului și majorării rolului agenților virali în declanșarea afecțiunilor inflamatorii, interesul către utilizarea ozonului medical s-a mărit considerabil. Motivul acestei creșteri în popularitate constă în aceea că ozonul medical are proprietăți remarcabile, contraindicații minime, o eficacitate clinică înaltă, tolerabilitate foarte bună, costul relativ scăzut, prin urmare și o accesibilitate sporită. Ozonul medical nu este un preparat farmacologic dar este un „stres hormetic” [215], un factor ecologic fizico - chimic pur cu multiple efecte biologice [206]. Astfel terapia cu ozon medical devine tot mai utilizată în complementarea diferitor modalități de tratament în domeniul medicinei generale și stomatologice [47, 69, 80, 102, 123, 188, 197, 230, 238, 254, 262].

Ozonul, a doua formă (activă) alotropă a oxigenului – este un corp gazos de culoare albăstrui. Molecula de ozon se compune din trei atomi de oxigen (O_3), este instabilă și se autodescompune în oxigen cu degajare de căldură. În plus viața moleculei de ozon depinde de temperatură, astfel la o temperatură de plus 20°C concentrația ozonului scade la jumătate în 40 min., la plus 30°C în 25 min., la minus 50°C concentrația ozonului scade la jumătate în 3 luni (106), iar la minus 78°C, în vas din sticlă, în anumite mase plastice sau metale pure,

ozonul practic nu se descompune [29].

Calitatea de bază care definește specificul proprietăților fizico-chimice este nivelul înalt de energie în exces a moleculei de ozon și acțiunea puternică de oxidare; ozonul fiind al 2-lea oxidant puternic după fluorină și persulfat [81, 213]. Ozonul oxidează toate tipurile de metale, cu excepția aurului și platinei. El este capabil să reacționeze cu majoritatea substanțelor organice și anorganice. Termodinamic, aceste reacții pot decurge până la oxidarea deplină, adică până la formarea apei, oxizilor de carbon și oxizilor altor elemente.

Cu toate că ozonul are un potențial înalt de oxidare, modul lui de interacțiune este foarte selectiv. Cauza acestei selectivități o prezintă polarizarea pozitivă a atomului de oxigen, care conferă întregii molecule caracter electrofil, din acest motiv moleculele cu densitate electronică înaltă sunt elementele reactive cele mai preferate. Compușii cu legături duble $C=C$ reacționează imediat, fenolii și aminele libere sunt oxidate în câteva secunde, în timp ce alcoolii se oxidează în câteva ore.

Un interes aparte îl prezintă reacțiile ozonului cu moleculele organice care posedă duble și triple legături, fapt ce conduce la înțelegerea caracterului biochimic de interacțiune al ozonului cu obiectele biologice [178, 265]. Ozonul reacționează și cu hidrocarburile nesaturate, aminele, grupele sulfhidrice și compuși aromatici. Pe lângă acizii grași nesaturați, aminoacizii aromatici și peptidele, în primul rând cele care conțin grupele $-SH$, sunt de asemenea sensibile la acțiunea ozonului.

Produsul interacțiunii moleculei de ozon cu substraturile bioorganice este molecula numită ozonidă [163]. Formarea ozonidei primare are loc corespunzător reacției, cunoscută de asemenea sub numele de, mecanismul Crigée (1953, 1975). Ozonarea legăturilor aromate are loc asemănător ozonării olefinelor cu crearea ozonidelor polimere [163].

Totodată, ozonul poate fi toxic prin inhalare și iritant pentru ochi. Inhalarea de către om și mamifere a ozonului în concentrații mai mari duce la reacții ale acestuia cu compușii mucoasei căilor respiratorii și distrugerea surfactantului pulmonar, deoarece el posedă o capacitate redusă de antioxidare. Datorită acestui fapt a fost stabilită o concentrație maximă admisă a ozonului în aerul încăperii de lucru ca 0,1 ppmv inhalat timp de o ora, ceea ce este de 10 ori mai mult decât pragul olfactiv la om (0,01 ppmv) [118, 221].

Ozonul medical este produs din oxigen pur (min. 99,5%) într-un generator de ozon, aparat ce conține un tub în care, printr-un proces endotermic se produc descărcări electrice de înaltă tensiune între electrozi. De fapt ozonul medical este un amestec de oxigen și ozon ($95\%O_2-5\%O_3$) [118]. Ozonul medical nu poate fi produs din aer, deoarece în prezența azotului se formează oxizi de azot toxici [120]. Ozonul medical administrat extern (pe piele,

pe suprafața lezată), intern (per os et per rectum) și parenteral, în spectrul concentrațiilor terapeutice, nu are efect toxic asupra organismului uman [172].

Utilizarea metodelor de aplicare și a dozelor necorespunzătoare a ozonului sunt cauzele cele mai frecvente de ineficacitate și de efecte adverse. Din acest motiv, societățile medicale de aplicare a ozonului au înființat protocoale de tratament ca și bază pentru standarde și ghiduri metodologice, revizuite și publicate în conformitate cu rezultatele recentelor cercetări și a experienței în domeniu din ultimii treizeci de ani [110, 120]. Acestea au fost utilizate în standardizarea aplicării, indicațiilor, concentrațiilor, dozelor și frecvenței tratamentului, bazate pe mecanismul de acțiune și farmacologie a ozonului medical.

Efectul farmacologic al ozonului medical urmează așa-zisul fenomen de hormeză, caracterizat prin efectul stimulator sau benefic al expunerii la concentrații joase la un agent care devine toxic în concentrații mai mari [116]. Conceptul ozonului în doze mici (Low-Doze Ozone), cu stres oxidativ moderat, devine la ora actuală o strategie ideală în ozonoterapie [206, 215].

Mecanismul de acțiune al ozonului medical cu diferiți compuși chimici, poate fi împărțit în două categorii majore, în dependență de modalitatea de aplicare:

- aplicarea topică (reacție directă a moleculei de ozon);
- aplicarea sistemică (reacție indirectă, mediată de RL)

Ambele mecanisme sunt implicate în distrugerea bacteriană [121].

Aplicarea topică a ozonului medical în formă gazoasă sau în formă de soluții ozonate posedă efect antimicrobian, antiviral, antifungic precum și efect de curățare și vindecare a plăgilor. Conform studiilor microbiologice, ozonul este capabil să distrugă toate bacteriile Gram - pozitive și Gram - negative cunoscute, inclusiv *P.aeruginosa*, *Legionella spp*, toți virușii lipo și hidrofili, inclusiv virușii hepatici A, B, C, HIV, sporii și formele vegetative a tuturor fungilor patogeni cunoscuți [32, 48, 76, 126, 139, 262].

Printre cauzele efectului bactericid al ozonului cel mai des se menționează despre perturbarea activității membranei celulare bacteriene prin oxidarea fosfolipidelor și lipoproteinelor cu afectarea în mod direct a integrității citoplasmatică. Bacteriile Gram – pozitive sunt mai sensibile la acțiunea ozonului, ca bacteriile Gram – negative, probabil datorită deosebirilor în structura membranală [119].

Atenția cercetătorilor privind efectul virucid al ozonului s-a axat pe proprietatea ozonului de a rupe legăturile multiple configurate a moleculelor lipide. Într-adevăr, odată ce învelișul exterior lipidic al virusului este fragmentat, ADN-ul sau ARN-ul nuclear nu poate

supraviețui. Virușii nu au nici o protecție împotriva stresului oxidativ, pe de altă parte, celulele la mamifere și la om posedă sisteme complexe de enzime (ex., SOD, catalaza, peroxidaza), care neutralizează efectele nefaste ale speciilor reactive de oxigen (SRO) și provocările oxidative.

La fungi, ozonul inhibă creșterea celulelor la o anumită etapă. Grupul de fungi numiți dermatofii [121] și familiile de fungi *Candida*, *Aspergillus*, *Histoplasma*, *Actinomyces*, *Cryptococcus* sunt distruse de expunerea la ozon. Acțiunea ozonului se explică prin faptul că pereții celulelor de fungi sunt multistratificați și sunt compuși din aproximativ 80% carbohidrați și 10% din proteine și glicoproteine. Prezența multor legături disulfurice creează o posibilitate de inactivare oxidativă cu ozon a fungilor. Pe lângă acestea, ozonul are capacitatea de a difuza prin peretele fungic în citoplasmă, astfel perturbând organele celulare.

Organismele protozoare afectate de ozon includ *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Acanthamoeba*, *Hartmonella*, și *Negleria*. Mecanismul exact prin care ozonul exercită acțiunea sa anti-protozoare nu a fost încă elucidat [169].

În același timp ozonul este mai eficient în mediu apos deoarece în urma descompunerii ozonului în apă se formează un radical hidroxil înalt reactiv. Marele dezavantaj al dizolvării ozonului medical în apă, este instabilitatea lui în condiții naturale, ceea ce duce la o descompunere rapidă printr-o serie complexă de reacții în lanț și prin urmare nu poate fi stocat [165]. În schimb, dizolvat într-un ulei vegetal, ozonul poate fi stocat, obținându-se o stabilitate și o durată de valabilitate măsurată în ani. Majoritatea uleiurilor vegetale conțin trigliceride în proporție de 97-98%. Ozonul reacționează cu legăturile duble ai acizilor grași nesaturați [179, 220] și este utilizat pentru a scinda alchena sau a introduce funcționalități suplimentare de-a lungul lanțului [236]. În conformitate cu mecanismul de ozonoliză descris de Crigée în 1975 [98], tratarea uleiului vegetal cu ozon furnizează compuși ciclici numiți ozonide [163] sau 1,2,4 trioxolani și peroxizi (peroxizi polimerici și alți peroxizi organici) [194, 234, 251], considerate cele mai importante produse responsabile pentru activitatea antimicrobiană și stimularea proprietăților de reparare și regenerare a țesuturilor [106, 271]. Probabil, atunci când ozonida vine în contact cu exudatul din leziune, ea se descompune încet în diferiți peroxizi, fapt ce poate explica activitatea prelungită antimicrobiană și de stimulare a refacerii țesutului [140, 194, 252, 255].

Uleiurile vegetale ozonate, în dependență de gradul de ozonoliză, pot fi lichide sau semisolide. Cel mai frecvent la fabricarea ozonidelor și implicit a uleiului ozonat este folosit uleiul de măsline, cu toate acestea, există și alte uleiuri vegetale care conțin uleiuri omega.

Fiecare ulei are o concentrație diferită de acizi grași omega 3, 6, 9 iar concentrația fiecărui acid gras este calculată aparte, suma lor formând un număr final care se numește "Indicele Potențial de Ozonide " (POI) [163]. Uleiurile cu un procent mai mare de acizi grași rețin mai mult ozon, astfel se pot obține uleiuri ozonate cu diferite concentrații de ozonide și peroxizi.

Aplicarea sistemică a ozonului medical prin autohemoterapie majora (AHTM), autohemoterapie minora (AHTm), sub forma infuziilor intravenoase de ser fiziologic sau sub formă de amestec gazos O_2/O_3 în insuflații rectale, vaginale sau injecții (infiltrații) subcutanate, intramusculare, para/intra articulare, posedă efect antalgic, antihipoxic, antiinflamator, antiedematos, antioxidant, imunomodulator, miorelaxant și de dezintoxicare. În urma aplicării sistemice a ozonului în organism sunt activate următoarele procese [214]:

- Activarea și inducerea antioxidantilor biologici și a captatorilor de RL;
- Activarea celulelor imunocompetente;
- Activarea metabolismului celulelor roșii sangvine (RBC);

Datorită instabilității și solubilității sale ridicate ozonul se dizolvă instant în apă ca și în lichidele biologice [3], în fluidele extracelulare, sau în stratul subțire de apă care acoperă pielea și cel al mucoasei tractului respirator, intestinal, vaginal, etc.; fiind un oxidant puternic reacționează imediat cu un număr de molecule prezente în fluidele biologice și anume cu antioxidanții, proteinele, carbohidrații și în special cu acizii grași polinesaturați (AGP) și nu mai rămâne în formă gazoasă.

Reacția ozonului cu atât de multe molecule implică câteva procese fundamentale care au loc simultan: pe de o parte ozonul este consumat inevitabil în timpul oxidării acizilor ascorbic și uric, grupărilor sulfhidrice (SH) al glutathionului redus (GSH), proteinelor și glicoproteinelor prezente în apa plasmă [159], reacție importantă pentru că generează SRO, care declanșează la rândul său un lanț de reacții biochimice în sânge. SRO sunt neutralizate în primele 30-60 de secunde de sistemul antioxidant (SA). Pe de altă parte, are loc reacția de peroxidare a lipidelor [209]. Aceste reacții, finalizate în câteva secunde, utilizează doza totală de ozon și generează peroxid de hidrogen, un oxidant dar nu o moleculă radical (de obicei inclus în familia SRO) și o varietate de aldehide, cunoscute sub numele de produși de oxidare lipidică (POL).

Imediat ce ozonul se dizolvă în apa plasmatică și reacționează cu acizii grași polinesaturați (AGP), concentrația de H_2O_2 începe să crească, dar, la fel de rapid scade deoarece această moleculă neionizată pătrunde rapid în eritrocite, leucocite și trombocite, activează mai multe procese biochimice și simultan este supusă reducerii la apă, datorită

enzimelor intracelulare antioxidante glutation-peroxidaza (GPx), catalaza și GSH. Acest moment important corespunde unui stres oxidativ acut și tranzitoriu controlat, necesar pentru activarea biologică, fără vreo toxicitate, cu, condiția că doza de ozon este compatibilă cu capacitatea antioxidantă a sângelui [247].

În timp ce SRO sunt responsabile pentru efectele biologice imediate, POL sunt importanți prin efectorii tardivi, care pot ajunge la orice organ, în special la măduva osoasă, unde după legarea de receptori în concentrații submicromolare, determină adaptarea la stresul oxidativ acut repetat [121]. Având o prezență tranzitorie în citoplasmă, H_2O_2 (generat de ozon) acționează ca un mesager chimic al ozonului. Practic H_2O_2 funcționează prin oxidarea cisteinei [217], care la rândul său acționează asupra celulelor mononucleare din sânge [216, 122], a trombocitelor [115], a celulelor endoteliale [256] și a eritrocitelor [116, 118]. Odată pătrunse în celulă, moleculele de H_2O_2 sunt aproape imediat reduse la apă și/lipoperoxidii la hidroperoxizi.

Hidroperoxizii sau "Peroxizii de ozon", termen propus de mai mulți autori [118] își asumă rolul de metaboliți de ozon fiziologic activi. Datorită reacției selective a ozonului cu legăturile duble $C = C$ ale acizilor grași esențiali, ozonoliza clasică descrisă de Criegee, este reacția dominantă în condiții fiziologice cu valori ale pH-ului $\leq 7,4$. Ozonoliza durează doar fracțiuni de secundă, formând în mare parte lanțuri scurte de hidroxi-hidroperoxizi într-un mediu apos (peroxizi de ozon), care sunt în mod evident responsabili pentru efectul farmacologic în tratamentul sistemic cu ozon medical.

Peroxizii de ozon sunt compuși reactivi de oxigen, asociați membranelor, ce acționează ca mesageri secunzi prin intermediul reziduurilor de cisteină și/ sau prin glutationul redus (GSH) într-un mod mai puțin agresiv decât radicalii superoxid și H_2O_2 și preiau reglarea antioxidantă, fără necesitatea de SOD și catalază așa cum ar fi în stresul oxidativ dezvoltat ca rezultat al unor condiții patologice relevante .

Hidroxi-hidroperoxidul cu lanț scurt cu tendință scăzută la reacții radicale ar putea iniția reglarea mecanismelor protective antioxidante în calitate de semnal de redox (ex: prin intermediul factorului nuclear Nrf2 în stres oxidativ și prin intermediul factorului nuclear NF-kB în procese inflamatorii [215]).

Într-un tratament îndelungat, activitatea POL va culmina cu reglarea enzimelor antioxidante, apariția proteinelor de stres oxidativ (OSP) (hemoxigenaza 1, un marker tipic) și probabil eliberarea de celule stem, factori esențiali care explică unele dintre efectele extraordinare ale ozonoterapiei. Răspunsul terapeutic obținut după aceste stresuri oxidative repetate sugerează un efect de condiționare, capabil eventual să reechilibreze sistemul de

oxido-reducere tisular, modificat prin factorii patogeni [118].

Efectele imunomodulatoare ale ozonoterapiei sunt legate de inducerea de citokine de către limfocite și monocite [121], cum ar fi interferonii (IFN) beta și gama, interleukinele (IL) 1B, 2, 4, 6, 8 și 10, factorul de necroză tumoral (TNF α) și factorii de creștere GM-CSF (factorul stimulator al coloniilor de granulocite și macrofage), TGF β 1 (factorul transformator de creștere beta 1) [117], PDGF (factori de creștere plachetari), bFGF (factorul de creștere a fibroblastelor bazic), EGF (factorul de creștere epidermal), KGF (factorul de creștere keratinocitar) promovând astfel sinteza matricei intercelulare și procesul de vindecare [111, 235, 246]. Posibil că aceste citokine pot activa și alte celule limfoide, fapt ce duce la imunostimulare fără efecte secundare [185, 242].

Totodată, se studiază influența ozonului asupra activității fagocitare a leucocitelor. Terapia cu ozon medical modulează toate etapele dereglate ale procesului de fagocitoză și contribuie la eliminarea rapidă a inflamației [34]. În primul rând se reduce timpul de aderență la suprafața fagocitului (PMN, macrofage) și în al doilea rând este deosebit de pronunțată activarea etapei de explozie respiratorie, determinată de formarea de peroxizi. O alta modalitate posibilă de activare fagocitară este creșterea sintezei factorului de stimulare fagocitară [72].

Ozonul medical stimulează metabolismul oxigenului prin creșterea glicolizei în eritrocite. Activarea proceselor dependente de oxigen în globulele roșii se manifestă, prin creșterea activității sistemului glutatonic [121, 214]. Oxidarea grupelor sulfhidrilice (–SH) are ca rezultat acumularea formei oxidate de glutatone (GSSG) cu modificarea raportului GSH redus către cel oxidat [118], ceea ce duce la utilizarea nicotinamid adenin dinucleotid fosfatului, forma redusă (NADPH), pentru reciclarea glutatonei oxidate (GSSG) la nivelul inițial de GSH. NADPH este o coenzimă ce servește ca donator de electroni pentru diferite reacții biochimice, în plus NADPH restabilește și alți antioxidanți intracelulari, mai ales vitamina E și acidul ascorbic [72]. La rândul său NADP, forma oxidată este redusă după activarea căii pentoze-fosfat, în care glucozo-6-fosfat dehidrogenaza (G-6-PDH) este enzima cheie, ceea ce duce la creșterea glicolizei [121]. Pe de altă parte, aceasta conduce, la majorarea 2,3 difosfogliceratului (2,3-DPG) ceea ce la rândul său produce o creștere a cantității de oxigen eliberată de oxihemoglobină către țesuturi, îmbunătățind astfel alimentarea țesuturilor cu oxigen. În același timp creșterea glicolizei duce la activarea ciclului Krebs (calea aerobă) prin sporirea producției de adenosin trifosfat (ATP).

Pare evident că eritrocitele pot fi modificate prin ozonoterapie numai pentru o perioadă scurtă de timp. Totodată administrările terapeutice repetate pot permite compușilor POL să

ajungă la măduva osoasă și să activeze dezvoltarea subtilă la nivelul eritropoietic, favorizând formarea de „eritrocite superdotate” – eritrocite noi cu caracteristici biochimice îmbunătățite [114]. Conform acestei ipoteze datorită ozonoterapiei îndelungate, măduva osoasă poate elibera un grup (aproximativ 0,9% din fondul total) de eritrocite noi cu caracteristici biochimice îmbunătățite. De fapt, avantajul terapeutic nu se oprește brusc cu încetarea tratamentului, ci mai degrabă persistă 2-3 luni, probabil legat de durata de viață a eritrocitelor superdotate circulante. S-a demonstrat faptul că, după un ciclu îndelungat de ozonoterapie, fracțiunea de eritrocite tinere, izolate de cele bătrâne [190] prin separarea în gradient de densitate, a avut un conținut de G-6-PDH mult mai ridicat [114].

În urma activării proceselor metabolice în eritrocite se acumulează compuși macroergici ATP [191]. Ca rezultat, se intensifică funcția de transport a membranei celulare, prin activitatea pompelor ionice $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP-aza}$ și ca urmare se reglează concentrația cationilor intracelulari (K^+) și extracelulari (Na^+), nivelul potențialului membranal de repaus și dispunerea sarcinilor electrice, astfel modificându-se activitatea de adeziune și agregare al celulelor, ceea ce determină proprietățile reologice ale sângelui. În plus, formarea în bistratul lipidic membranal al peroxizilor micșorează vâscozitatea membranei lipidice bistratificate, fapt ce îmbunătățește flexibilitatea și elasticitatea (capacitatea de deformare) a eritrocitelor [72].

Astfel SRO și POL sunt responsabili nu doar de creșterea funcțiilor eritrocitare [118], dar și de activarea leucocitelor [121, 201], trombocitelor [115, 257] și celulelor endoteliale [256]. Această activare multidirecțională și simultană duce la o eliberare sporită de oxid nitric (NO), prostaciline (prin reacția selectivă cu legăturile duble din acidul arahidonic, declanșând metabolismul lui), adenozine [219], autacoide și contribuie la îmbunătățirea vascularizării țesutului [167].

Într-adevăr, POL prin interacțiunea cu endoteliul, sporește formarea de NO (și NO-tioli) și CO, care în continuare vor crește aportul de oxigen îmbunătățind astfel microcirculația. Mai mult, fenomenul de adaptare la stresul oxidativ cronic implică faptul că tratamentele repetate cu ozon induc sinteza proteinelor de stres oxidativ, din care HO-1 (hemoxigenaza) este un exemplu primar. Această enzimă va produce un nivel crescut de bilirubină (un antioxidant lipofil la fel de puternic ca tocoferolul) și CO. Enzima reduce în mod indirect vasoconstricția deoarece suprimă expresia genelor de endotelina-1 și inhibă proliferarea celulelor musculare netede [143, 193]. Este cunoscut faptul că NO, eliberarea căruia este sporită în ozonoterapie [167, 256], este cel mai important vasodilatator fiziologic și inhibitor de agregare plachetară și leucocitară și de adeziune la endoteliu care în cooperare

cu anumite urme de CO sporește relaxarea vasculară [121].

Studiile care investighează efectele ozonoterapiei asupra parametrilor hematologici / hemodinamici au demonstrat că tratamentul cu ozon medical, practic, nu modifică nici nivelurile methemoglobinei, nici nivelurile hematocritului, pentru că nu are loc vreo schimbare a volumului RBC, cauzată de edem sau liză, dar influențează activ sistemul de coagulare a sângelui. Scăderea vâscozității sangvine și plasmatică se datorează nivelurilor reduse de fibrinogen [116, 228].

Fibrinogenul este factorul primar de coagulare, proprietatea biologică a căruia este capacitatea de a se coagula sub influența enzimei specifice – trombina. Produsul acestei reacții – fibrina, formează baza reticulară a trombului, care obliterează vasul afectat. Fibrinogenul joacă un rol important în agregarea eritrocitelor și trombocitelor [44], iar mărirea concentrației de fibrinogen, conduce la creșterea vâscozității sângelui [25]. Astfel, crescând activitatea fibrinolitică, ozonul medical, în concentrații joase, scade agregarea celulelor sangvine și ameliorează proprietățile reologice ale sângelui [90]. Activarea mecanismului fibrinolitic în sistemul de hemostază previne dezvoltarea cheagurilor de sânge, provocând tromboza parțială sau totală, ceea ce duce la liza fibrinei și asigură eliminarea ei din patul vascular. Acesta fiind unul dintre mecanismele primare de revascularizare și de restabilire a fluxului de sânge la organe și țesuturi [25].

În concentrații înalte ozonul medical, utilizat doar în aplicații externe, are un efect pronunțat hemostatic [121].

Prin urmare, nu ozonul în sine, dar SRO (în mare parte H_2O_2) și POL sunt responsabili pentru reacțiile biochimice succesive și multiple care au loc în diferite celule prin tot corpul [121].

Ozonul medical posedă și alte acțiuni, după cum urmează:

Efectul de detoxifiere al ozonului medical se manifestă prin corectarea și activarea proceselor metabolice, oxidarea prin H_2O_2 a deșeurilor biologice și a toxinelor, transformându-le în substanțe inerte, care sunt ușor eliminate prin piele, ficat și rinichi din organism.

Efectul analgezic al ozonului medical este determinat de hiperoxigenarea treptată a zonei de inflamație și oxidarea produșilor rezultați în urma degradării moleculelor proteice (oligopeptide), care, în țesutul deteriorat, acționează asupra terminațiilor nervoase ce sunt implicate în transmiterea semnalului SNC și care determină intensitatea răspunsului la durere [72]. În plus, mecanismul său analgezic este considerat a fi bazat pe stimularea aparatului antinociceptiv, mediată de opioizi endogeni și serotonină, astfel ridicând pragul durerii. Pe

lângă acestea, proprietățile antiinflamatorii marcante ale ozonului reduc edemul și compresia pe structurile profunde nervoase [99].

Acțiunea miorelaxantă reduce concentrația calciului intracelular și la nivelul joncțiunii neuromusculare, ceea ce conduce la reducerea eliberării de acetilcolină [121], astfel scade tensiunea și crește flexibilitatea musculară. Ozonul medical oxidează acidul lactic, ceea ce reduce acumularea lui în țesutul muscular și sânge, crește rezistența musculară și previne durerea după efort fizic.

Terapia cu ozon medical nu generează alergii sau intoleranțe, nu are reacții adverse, întrucât este un gaz pur O_2-O_3 ce se obține din oxigen medical. Totodată, ozonul medical ar trebui să fie utilizat cu prudență în caz de condiții decompensate: insuficiența cardiacă decompensată, intoxicația acută cu alcool, condiții hipoglicemice, reacții extreme simpaticotonice și parasimpaticotonice (vagotonice) și cancer [268, 225]. Contraindicațiile pentru terapia cu ozon medical sunt următoarele:

- Hipertiroidismul (dacă nu este sub control)
- Deficitul eritrocitar de G-6-PDH (favism, anemie hemolitică acută)
- Leucemie [225]

Ozonul medical utilizat pe larg în medicina generală este aplicat în stomatologie ca tratament complementar sau în combinație cu alte metode de ozonoterapie [112].

Cel mai des în stomatologie și chirurgie maxilo-facială (CMF) sunt utilizate soluțiile ozonate [229]. În stomatologie apa bidistilată ozonată se utilizează pentru asanarea antiseptică a CB, irigarea leziunilor carioase și canalelor radiculare. Jetul de apă ozonată elimină în totalitate materialul purulent și dezinfectează zona afectată [147]. Utilizarea ozonului în combinație cu detartrajul și periajul profesional al dinților permite obținerea unei îmbunătățiri considerabile a indicilor igienei CB și a indicilor parodontali [89, 124].

Deși utilizarea directă a ozonului în forma gazoasă este interzisă (toxic prin inhalare), A. Baysan și E. Lynch au folosit cu succes un sistem nou de livrare a ozonului în tratamentul leziunilor carioase radiculare primare (PRCL), capabil să evite orice risc toxic. Sistemul include o sursă de ozon medical și o piesă dentară de mână, în capul căreia se fixează o ventuză din silicon detașabilă. Având o margine elastică, ea se etanșează la suprafața dintelui și permite expunerea leziunii carioase la gaz. Expunerea la ozon pentru o perioadă de 10-20 sec. cu o concentrație de ozon (circa 4 mcg/ml) și un debit de gaz de aproximativ 600 ml/min. este suficientă pentru a distruge toate microorganismele prezente în leziunile carioase radiculare primare. Deosebit de important în cazul dat, este denaturarea proteinelor

și moartea lactobacililor care, în procesul metabolizării glucozei, produc acid lactic, ceea ce favorizează demineralizarea smalțului dentar. Efectul sterilizării rapide a suprafeței dentare de către ozon se menține aproximativ o oră, timp suficient pentru remineralizarea smalțului de către fosfatul de calciu prezent în salivă, dintele devenind astfel dur și rezistent la mai multe atacuri bacteriene pentru cel puțin trei luni [109].

Proprietatea antimicrobiană a ozonului medical utilizată în reducerea numărului de bacterii cariogene este de asemenea cauza reducerii semnificative a microorganismelor prezente în BP. Apa ozonată, din punct de vedere al unui potențial agent antiseptic, prezintă, în majoritatea condițiilor, o citotoxicitate mai redusă decât ozonul gazos sau agenții antimicrobieni consacrați, precum digluconatul de clorhexidină, hipocloritul de sodiu sau peroxidul de hidrogen. Prin urmare, apa ozonată îndeplinește caracteristicile biologice celulare optime în ceea ce privește biocompatibilitatea pentru aplicarea orală [249].

În CMF sunt utilizate local soluțiile ozonate în tratarea proceselor inflamatorii purulente (periostită, alveolită, flegmon) [46, 134], în fracturi deschise ale mandibulei și în profilaxia posttraumatică a complicațiilor inflamatorii.

În endodonție ozonul medical este foarte eficient, doar că trebuie asigurată corectitudinea aplicării ozonului și anume: concentrația suficientă, timp adecvat și modul corect de aplicare în canalele radiculare, bineînțeles după ce prepararea, irigarea și curățarea tradițională endodontică a fost finalizată. Studiile au demonstrat potențialul utilizării ozonului în formă de gaz, de apă ozonată și ulei ozonizat în terapia endodontică. Apa ozonată poate fi utilizată ca un irigant final în combinație cu un dispozitiv ultrasonic care produce un „striming” acustic foarte eficient, ce permite apei ozonate să penetreze multe porțiuni ale anatomiei intraradiculare, ceea ce este cu mult mai eficient decât metodele convenționale de obturare [152].

Utilizarea ozonului în prevenirea periimplantitelor este motivată prin asigurarea unui regim adecvat și constant de control al plăcii bacteriene, în plus ozonul prezintă un efect pozitiv de vindecare a rănilor datorită creșterii circulației sanguine în țesut.

Prezintă interes comunicările privind aplicarea uleiurilor ozonizate în CMF, în special în alveolită [134]. Autorii remarcă reducerea perioadei de vindecare în comparație cu durata terapiei tradiționale.

Astfel cercetările clinice au demonstrat eficacitatea aplicării ozonului medical în stomatologie [46, 68, 134, 163, 229, 249], totodată, acțiunea antibacteriană a ozonului este limitată doar la exteriorul țesutului, fără a influența troficitatea parodonțiului.

Din aceste considerente pentru a spori eficacitatea tratamentului complex al PMC grave, au fost alese ambele metode de administrare a ozonului medical: aplicarea sistemică prin autohemoterapie majoră (AHTM) și infiltrații submucoase și aplicare topică prin ulei ozonat semisolid.

Pentru a obține date veridice în compararea rezultatelor tratamentului, pacienții din cele două loturi au fost selectați în baza criteriilor de includere-excludere. Similaritatea loturilor investigate, înainte de începerea studiului, a permis evaluarea prin comparare a eficienței celor două metode de tratament parodontal complex al PMC grave (clasică nechirurgicală și clasică nechirurgicală complementată cu ozonoterapia sistemică și topică). Toți pacienții din lotul de control, pe lângă tratamentul parodontal clasic nechirurgical, au urmat un curs de 6 ședințe de AHTM, o dată la trei zile, combinate cu infiltrații submucoase și aplicații de ulei ozonat semisolid.

Utilizând aplicarea topică a ozonului medical prin infiltrații submucoase (injectarea locală în mucoasă), a fost propus un nou procedeu de tratament și înregistrat brevetul de invenție (vezi Anexa 4.).

Utilizând aplicarea topică a uleiului ozonat semisolid, a fost propus un nou procedeu de tratament. Brevetul de invenție include și metoda de preparare și aplicare a uleiului ozonat semisolid (vezi Anexa 4.).

În ambele loturi au fost pacienți care au prezentat elemente de candidoză orală. Candidoza este o afecțiune ce apare în urma antibioticoterapiei de lungă durată sau a unor afecțiuni cronice și/sau deficiențe imunologice. Afecțiunea dată nu a fost luată în considerație la momentul selecției pacienților în baza criteriilor de includere-excludere. Totodată în lotul tratat cu ozon medical la pacienții care prezentau candidoză orală s-a observat o remisie totală a acestor elemente. Utilizând aplicarea topică a ozonului medical, a fost propus un nou procedeu de tratament și înregistrat un brevet de invenție (vezi Anexa 4.).

Rezultatele studiului au relevat faptul că pacienții tratați complementar cu ozon medical aplicat sistemic și local au prezentat o ameliorare la toți parametrii clinici, care s-a menținut timp de 3 luni, revenind după 6 luni la valorile inițiale, cu excepția valorilor medii ale cantității totale de germeni care la 3 luni au revenit în totalitate la valorile inițiale și a valorilor medii al nivelului sangvin al enzimei SOD, care la 6 luni erau în normă.

4.2 Analiza comparativă a valorilor medii ale indicelui PBI

Din datele tabelului reiese că până la tratament nu au existat diferențe semnificative între cele două loturi ($p < 0,001$). Valoarea medie ale indicelui PBI în lotul de control s-a redus

după tratament de la 77,8% ($p<0,01$) la 9,4% ($p<0,001$), îmbunătățire menținută timp de 1 lună, fiind urmată de o creștere treptată, ajungând la 3 luni aproape de valorile inițiale. Totodată lotul tratat complementar cu ozon medical a prezentat o reducere mai mare a valorii medii ale indicelui PBI după tratament, de la 83,8% ($p<0,01$) la 6,9% ($p<0,001$), îmbunătățire menținută timp de 3 luni, ajungând la 6 luni aproape de valorile inițiale (Figura 4.1.).

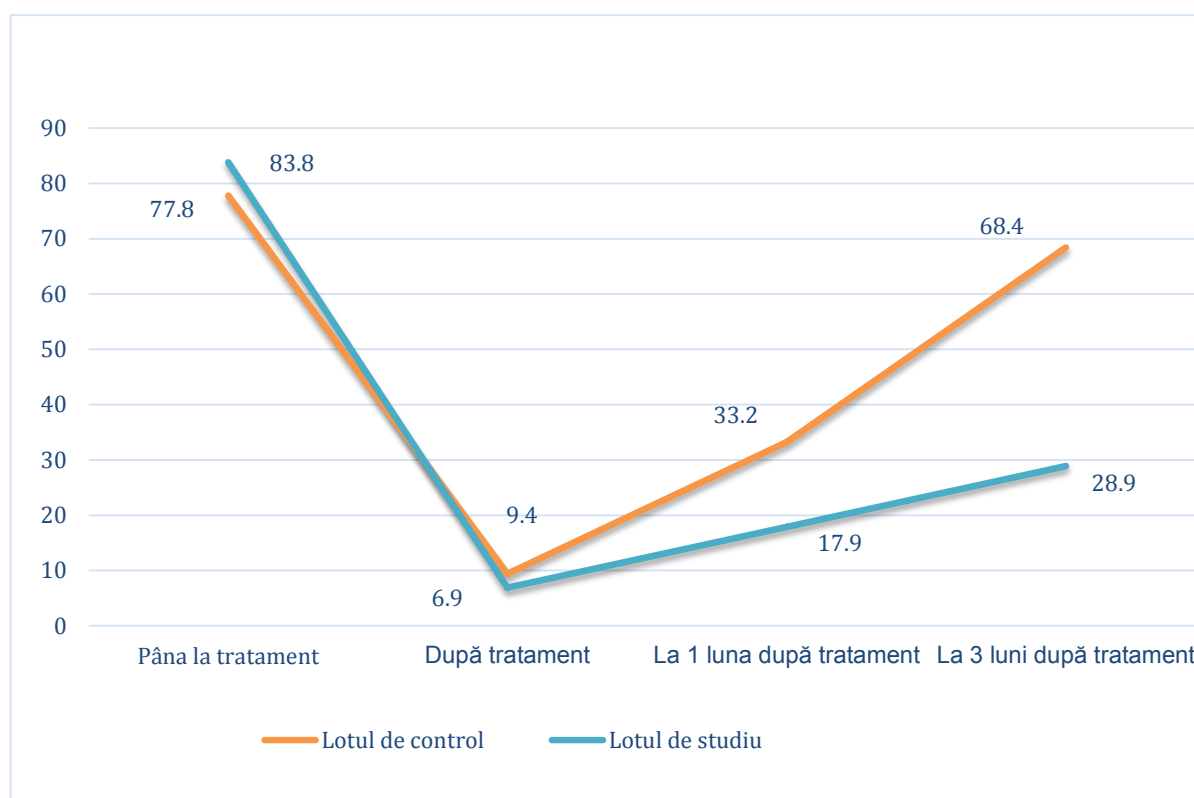


Fig.4.1. Analiza comparativă a valorilor medii ale indicelui PBI între loturi până la tratament, după tratament, la 1 și 3 luni după tratament.

4.3 Analiza comparativă a cantității totale de germeni asociați parodontitei

Având în vedere că în etiologia afecțiunilor inflamatorii ale parodonțiului un rol important îi revine factorului infecțios, metoda optimă de tratament presupune în primul rând înlăturarea acestui factor [36, 148]. În legătură cu aceasta, s-a acordat o atenție deosebită controlului stării de igienă orală. Dinamica indicilor clinici a arătat că, complementarea tratamentului clasic nechirurgical, cu ozonoterapia sistemică și topică a contribuit la o ameliorare mai rapidă și de durată mai lungă a stării de igienă orală în comparație cu tratamentul clasic nechirurgical. În plus, diminuarea rapidă a fenomenelor inflamatorii în țesuturile

parodontale, a permis pacienților cu PMC gravă, o igienizare mai bună a CB, fără a mai avea teama de a-și provoca dureri sau sângerări la periaj dentar.

Din punct de vedere bacteriologic și ținând cont de studiile microbiologice conform cărora ozonul medical posedă acțiune bactericidă [32, 47, 51, 100, 115, 123, 126, 160, 188, 230, 262, 265], studiul de față și-a propus să cerceteze în ce măsură ozonul medical acționează asupra bacteriilor parodontopatogene la pacienții cu PMC gravă.

În acest sens a fost ales testul micro-IDent®plus 11, folosit pentru identificarea bacteriilor parodontopatogene, care are la bază tehnica polimerizării în lanț (PCR) și prezintă o specificitate înaltă pentru identificarea a unsprezece bacterii parodontopatogene și permite stabilirea cantității lor relative. Testul este de asemenea mai sensibil decât cultura bacteriană deoarece identifică germenii după ADN, indiferent de viabilitatea acestora [13].

Analiza rezultatelor a relevat faptul că până la tratament nu au existat diferențe semnificative între cele două loturi ($p > 0,05$). După tratament în lotul de control a existat o reducere ușoară a cantității totale de germeni cu 11,3% ($p < 0,01$), iar la 1 lună după tratament o creștere cu 5,3% ($p < 0,01$) peste valorile inițiale. În comparație cu lotul de control, lotul tratat cu ozon medical a prezentat o scădere semnificativă a cantității totale de germeni după tratament cu 16,7% ($p < 0,01$) și la 1 lună după tratament era scăzută cu 6,9% ($p < 0,001$) față de valorile inițiale.

Analiza comparativă, a arătat că lotul de studiu a prezentat o reducere mai mare a valorii medii a cantității totale de germeni (Figura 4.2.). Pe de altă parte, nu a existat nici o diferență semnificativă statistic între loturi la 3 luni ($p > 0,05$).

Rezultatul obținut a demonstrat eficiența complementării tratamentului parodontal clasic nechirurgical cu ozonoterapia sistemică și topică. Cu toate acestea, îmbunătățirea a durat doar 1 lună, urmată de o recolonizare cu bacterii parodontopatogene, favorizată de profunzimea PPr, care la 3 luni a ajuns la valorile inițiale, rezultat ce a confirmat faptul că profunzimea PPr mai mare de 6 mm prezintă un factor important de limitare în instrumentarea adecvată a suprafețelor radiculare și în eliminarea în totalitate a depunerilor dure și moi din PPr [200].

Prin urmare, în cazul pacienților cu PMC gravă, tratamentul complex al BP poate necesita și management chirurgical al PPr, ceea ce ar permite înlăturarea acestui factor.

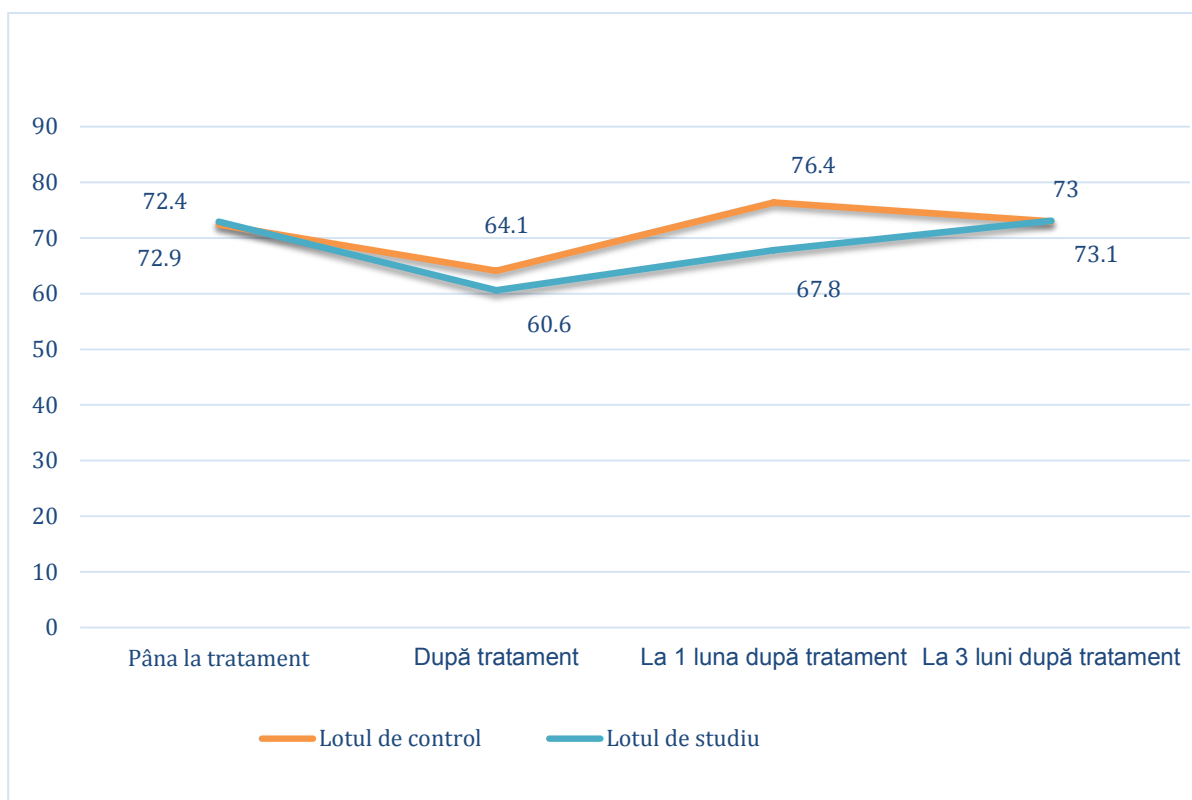


Fig.4.2. Analiza comparativă a cantității totale de germeni asociați parodontitei între loturi până la tratament, după tratament, la 1 și 3 luni după tratament.

4.4 Analiza comparativă a valorilor nivelului sangvin al enzimei sistemului AO – superoxid dismutaza (SOD).

Următorul obiectiv în acest studiu, a fost evaluarea comparativă a valorilor nivelului sangvin al enzimei sistemului AO – superoxid dismutaza (SOD). Alegerea SOD-ului ca marker de referință în acest studiu, a fost ghidată de corelația directă dintre enzima SOD și efectul farmacologic al ozonului medical aplicat sistemic.

Prezentă atât în interiorul cât și în afara membranelor celulare, SOD împreună cu glutathion peroxidaza și catalaza fac parte din sistemul primar intern de apărare antioxidantă al organismului și joacă un rol critic în reducerea stresului oxidativ implicat în dezvoltarea unei game largi de afecțiuni degenerative ce pun viața în pericol [181].

Diferite studii au arătat ca nivelurile markerelor stresului oxidativ și distrucțiile oxidative sunt crescute în BP, în raport cu martorii sănătoși, existând corelații semnificative între activitatea salivară antioxidantă și severitatea BP [135, 189, 231]. În alt studiu, bolnavii de parodontită generalizată cu PPr cu exudat purulent, prezentau o mobilizare semnificativ redusă a potențialului bactericid al mononuclearilor și neutrofilelor, fiind însoțită de intensificarea activității enzimelor de protecție antioxidantă (SOD și catalaza), dar care nu

reuşeau să înlăture intensificarea proceselor de peroxidare a lipidelor [71]. Una din acţiunile ozonului medical asupra patogenzei afecţiunilor parodontiului, o demonstrează scăderea activităţii proceselor de peroxidare a lipidelor şi stimularea concomitentă a sistemului de antioxidare [58, 70].

Analiza datelor acumulate până la tratament, nu a prezentat o diferenţă semnificativă statistic între cele doua loturi ($p>0,05$), valorile medii ale activităţii enzimice SOD fiind în normă doar la 11,44%, însă crescute la 81,28% şi scăzute la 7,25% din numărul total al pacienţilor [18].

În lotul de control după tratament nu a existat nici o schimbare evidentă a valorilor medii a funcţionalităţii al enzimei antioxidante SOD.

Pe de altă parte, lotul tratat cu ozon medical a prezentat, la pacienţii cu valori crescute al enzimei SOD, o scădere semnificativă a valorilor medii a nivelului sangvin al enzimei SOD după tratament şi la 1 lună după tratament o scădere până la valori normale. Respectiv la pacienţii cu valori scăzute al enzimei SOD, o creştere semnificativă a valorilor medii a activităţii SOD până la valori normale (Figura 4.3.).

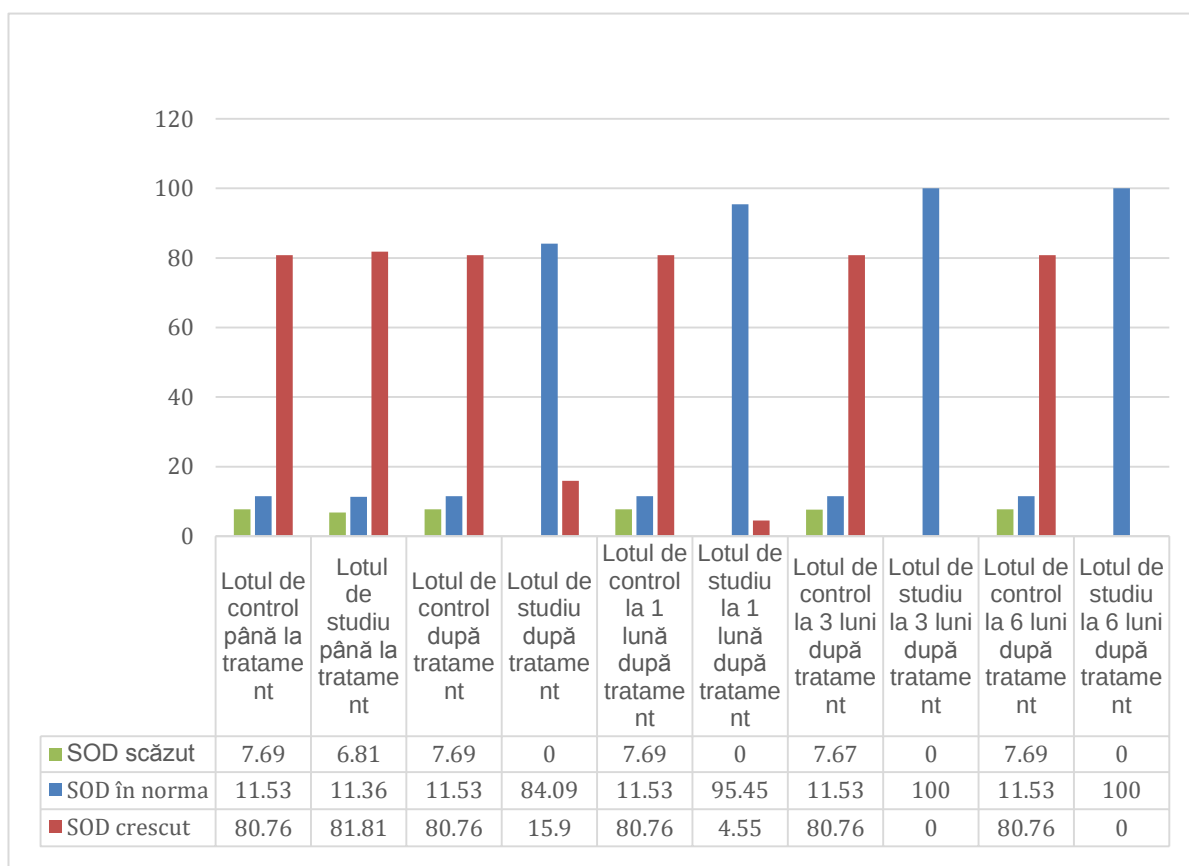


Fig.4.3. Analiza comparativă a valorii medii a nivelului sangvin al enzimei SOD, între loturi până la tratament, după tratament, la 1 lună, la 3 luni şi la 6 luni după tratament.

Astfel numărul pacienților cu nivelul sangvin al enzimei SOD în normă a crescut de la 11,36% la 84,09% ($p < 0,001$) imediat după tratament și la 95,45% ($p < 0,001$) la 1 lună după tratament, ajungând la 100% ($p < 0,001$) la 3 luni după tratament și menținându-se în normă la 6 luni după tratament.

4.5 Analiza comparativă a modificărilor indicilor microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal

Un alt element cu rol important în apariția BP îl constituie perturbarea microcirculației sangvine în țesuturile parodontale [203, 213].

În procesul ozonoterapiei are loc saturarea cu oxigen atât a plasmiei, cât și a eritrocitelor [72, 76, 214, 222]. Stimularea metabolismului oxigenului în celulele roșii sangvine (RBC) induce creșterea glicolizei [75, 118], pe de o parte, și activarea 2,3 difosfogliceratului (2,3-DFG) pe de altă parte. La rândul său majorarea 2,3-DFG produce o creștere a cantității de oxigen eliberată de oxihemoglobina către țesuturi, îmbunătățind astfel alimentarea țesuturilor cu oxigen [101, 269].

Acumularea compușilor macroergici ATP în urma activării proceselor metabolice în eritrocite contribuie la [191] intensificarea funcției de transport a membranei celulare, astfel modificându-se activitatea de adeziune și agregare al celulelor, totodată îmbunătățirea flexibilității și elasticității eritrocitelor crește capacitatea de deformare a lor. Toate acestea în final conduc la o îmbunătățire semnificativă a proprietăților reologice ale sângelui, ceea ce determină o parte importantă a eficacității terapiei cu ozon medical [72].

Un alt element de o importanță majoră în fiziologia patului vascular îl constituie îmbunătățirea în urma terapiei cu ozon medical a vasodilatației, inhibarea agregării-adeziunii plachetar-leucocitare și oprirea proliferării celulelor musculare netede [118, 191, 256]. În același timp ozonul medical influențează activ sistemul de coagulare a sângelui prin inducerea unei hipocoagulări moderate datorită scăderii vâscozității sangvine și plasmatică, nu prin modificarea nivelului methemoglobinei și a hematocritului, care apare la orice schimbare a volumului celulelor roșii sangvine (RBC), cauzată de edem sau liză, dar prin creșterea timpului de tromboplastină parțial activat (APTT) și a timpului de trombină, scăderea agregării trombocitare și a nivelului de fibrinogen [116, 228].

Astfel ozonul medical previne dezvoltarea cheagurilor de sânge, provocând tromboliza parțială sau totală și asigură eliminarea fibrinei din patul vascular. Acesta fiind unul dintre mecanismele primare de revascularizare și de restabilire a fluxului sangvin la organe și țesuturi [25].

În cadrul studiului dat acțiunea ozonului medical asupra microcirculației sangvine în țesuturile parodontale la pacienții cu PMC gravă, a fost evaluată comparativ prin metoda fluxmetriei laser-Doppler (LDF) [17]. LDF este o metodă de diagnosticare non-invazivă, înalt informațională și suficient de sensibilă, cu o rezoluție înaltă de apreciere a gradului de modificare a circulației sangvine capilare în țesuturi, care permite evidențierea volumului de flux sangvin la nivel capilar, depistarea semnelor precoce de afectare a rețelei capilare, evaluarea metodelor și eficacității terapeutice abordate.

Analiza comparativă a rezultatelor obținute prin metoda LDF la pacienții diagnosticați cu PMC gravă, a permis identificarea unui număr de caracteristici specifice al statusului perfuziei sangvine în țesutul parodontal [17].

Analiza valorilor nivelului de microcirculație (M) până la tratament, nu a prezentat o diferență semnificativă statistic între cele două loturi ($p < 0,05$). În lotul de control valorile medii M au crescut după tratament cu 9,96% și după 1 lună de la tratament erau crescute cu 1,42%, revenind aproape în totalitate la valorile inițiale. Respectiv, în lotul tratat cu ozon medical valorile medii M au crescut după tratament cu 15,48%, au continuat să crească după 1 lună de la tratament până la 22,52% și după 3 luni de la tratament erau crescute cu 14,32%, revenind la 6 luni aproape de valorile inițiale (Figura 4.4).

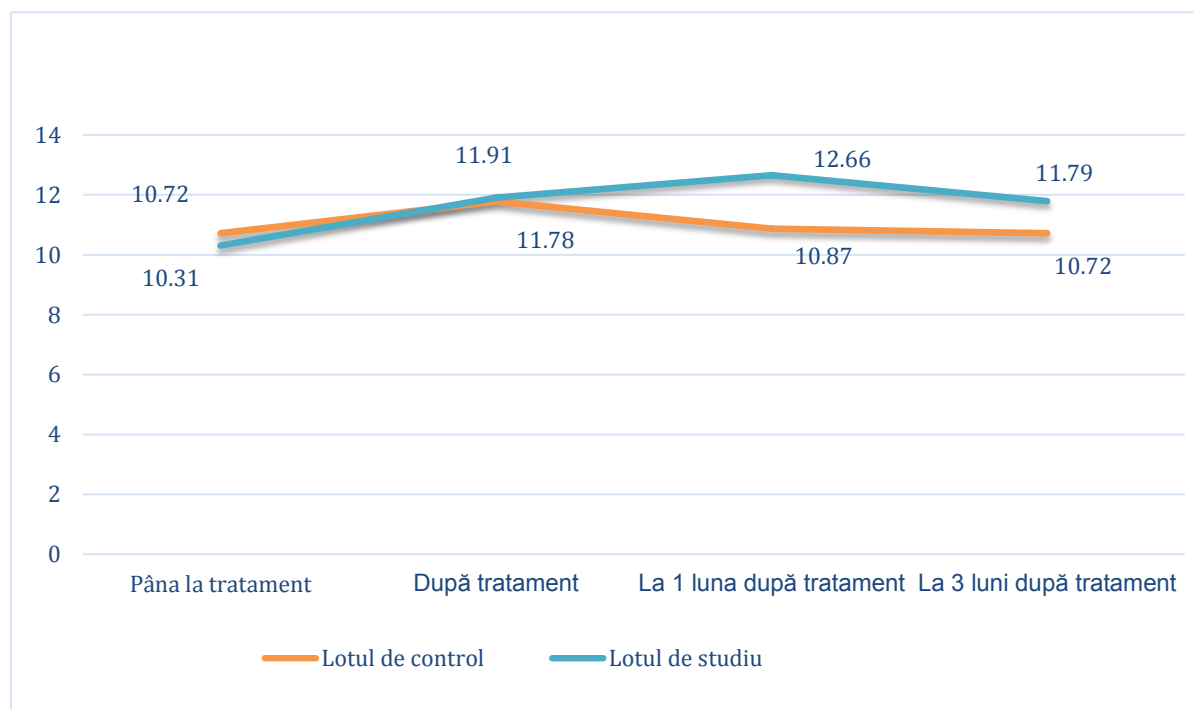


Fig.4.4. Analiza comparativă a valorii medii a nivelului de microcirculație (M) sangvină capilară în țesutul parodontal, între loturi până la tratament, după tratament, la 1 și 3 luni după tratament.

Analiza valorilor indicelui eficacității microcirculației (IEM) până la tratament nu a prezentat o diferență semnificativă statistic între cele două loturi ($p>0,05$).

În lotul de control valorile IEM au scăzut după tratament cu 20,92% și după 1 lună de la tratament erau scăzute cu 1,4%, revenind aproape în totalitate la valorile inițiale.

În lotul tratat cu ozon valorile IEM au crescut după tratament cu 26,61%, erau crescute după 1 lună de la tratament cu 18,61%, erau crescute după 3 luni de la tratament cu 10,82%, revenind la 6 luni aproape de valorile inițiale (Figura 4.5.).

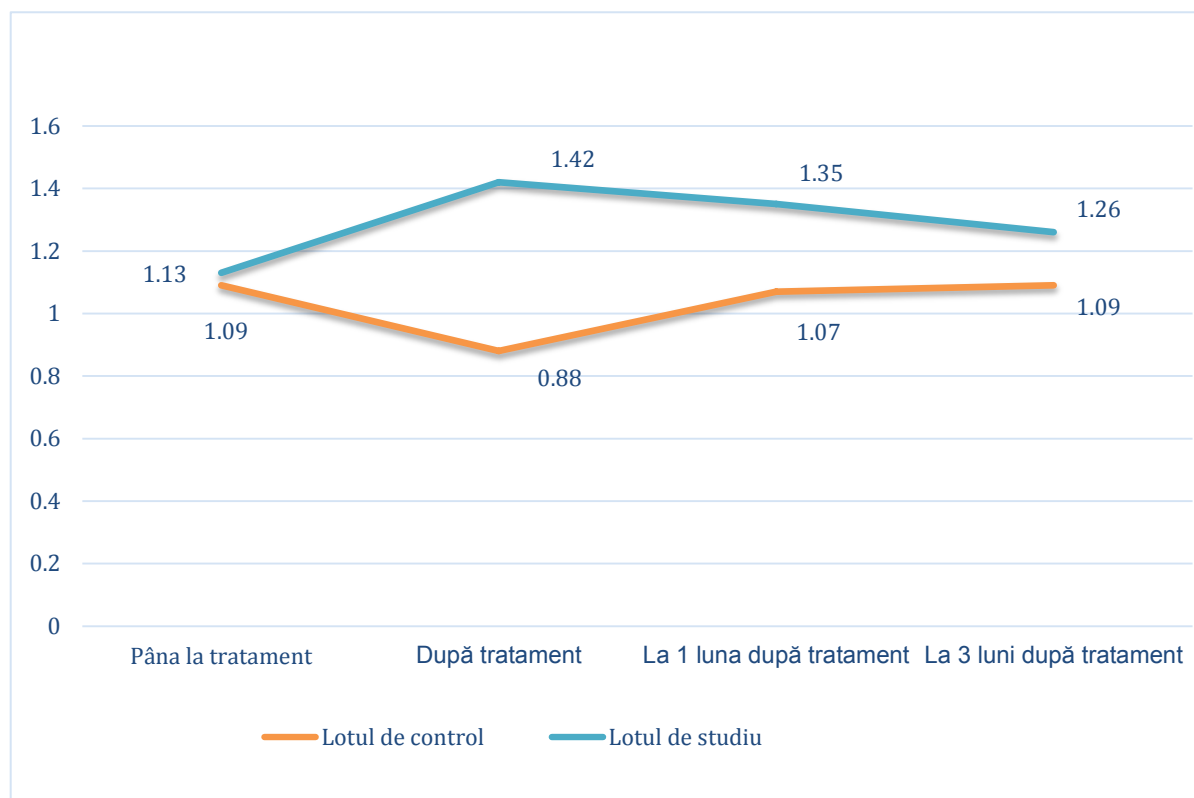


Fig.4.5. Analiza comparativă a valorilor medii ale indicelui eficacității microcirculației (IEM) sangvine capilare în țesutul parodontal, între loturi până la tratament, după tratament, la 1 și 3 luni după tratament.

Descompunerea spectrală al LDF – gramelor a permis analiza componentelor fluxmotrice ale fluxului sangvin. Factorii care determină mecanismul pasiv de modulare a fluxului sangvin în sistemul de microcirculare și anume amplitudinea maximă a oscilațiilor de frecvență înaltă a fluxului sangvin (AHF) crescută și amplitudinea maximă a oscilațiilor pulsatorii ale fluxului sangvin (ACF) scăzută duc la scăderea valorilor medii al IEM.

Scăderea IEM în lotul de control, caracterizează dezvoltarea unei congestii venoase în patul microcirculator al țesutul parodontal, ca urmare a expunerii traumatice minime a

parodonțiului în urma tratamentului clasic nechirurgical și a creșterii fluxului sanguin (M), iar dificultatea de reflux sangvin denotă tulburări hemodinamice grave existente la nivelul microcirculației în țesutul parodontal, la pacienții cu PMC gravă. După 1 lună de la tratament, scăderea treptată a nivelului fluxului sangvin, a dus la revenirea la valorile inițiale M și IEM în lotul de control.

Pe de altă parte, lotul tratat cu ozon medical a prezentat o continuă creștere a valorilor medii M și IEM, valorile IEM obținute imediat după tratament ($1,42 \pm 0,02$) au corespuns valorilor normale ale parodonțiului sănătos intact [60], valori care au scăzut treptat, ajungând la 6 luni după tratament aproape de valorile inițiale. Acest fapt caracterizează restabilirea temporară a microhemodinamicii la nivelul țesutului parodontal.

4.6 Cazuri clinice

Ambele metode de tratament au fost bine tolerate de către pacienți, fără complicații, cu excepția infiltrațiilor submucoase de ozon în CB, care erau percepute, mai mult sau mai puțin, ca durere, diferența fiind în gradul de inflamație locală și probabil pragul individual de sensibilitate la durere a fiecărui pacient în parte. Durerea care apărea în urma injectării submucoase a ozonului medical era de scurtă durată, deoarece ozonul medical având acțiune analgezică, anestezia la propriu zona în care era infiltrat. Totodată intensitatea durerii mai depinde și de concentrația ozonului medical.

Rezultatele studiului au relevat faptul că pacienții tratați complementar cu ozon medical aplicat sistemic și local au prezentat o ameliorare la toți parametrii clinici, asigurându-se o diminuare rapidă a fenomenelor inflamatorii în țesutul parodontal, o stimulare a proceselor reparatorii și de regenerare, astfel conducând la o menținere de durată mai mare a stării de igiena orală, în comparație cu pacienții tratați clasic. Totodată îmbunătățirile s-au menținut timp de 3 luni, revenind după 6 luni la situația inițială, cu excepția valorilor medii ale cantității totale de germeni, care la 3 luni au revenit în totalitate la valorile inițiale și a valorilor medii al nivelului sangvin al enzimei SOD, care la 6 luni erau în normă.

Mai jos sunt prezentate următoarele exemple de cazuri clinice:

Cazul 1:

Pacient V.P., în vârstă de 65 ani, sex feminin, se află de mai mulți ani sub tratament parodontal nechirurgical de menținere, se prezintă în clinică acuzând o jenă dureroasă spontană, localizată la nivelul dintelui frontal maxilar. Examenul obiectiv pune în evidență o umflătura roșie pe gingie cu o porțiune gălbuie în zona de bombare maximă, la nivelul 12.

Examenul clinic pune în evidență existența unui abces parodontal la nivelul 12, cu exudat purulent abundent, sângerare la palpare, mobilitate dentară, placă bacteriană și punji parodontale cu adâncime până la 6 – 11 mm.

Diagnostic: parodontită marginală cronică localizată gravă, complicată cu abces parodontal marginal în regiunea dt.12 (Figura 4.6.a.b.c.d.e.f.).



Fig.4.6.(a). Pacient V.P. până la tratament. (b). Ortopantomografia pacient V.P. până la tratament.

Planul de tratament: scalarea și planarea radiculară (SRP), complementată cu ozonoterapia sistemică (autohemoterapie majora și infiltrații submucoase de ozon medical) și aplicații topice de ulei ozonat semisolid.



Fig.4.6.(c). Pacient V.P. după tratament, (d). Pacient V.P. 1 lună după tratament.



Fig.4.6.(e). Pacient V.P. 3 luni după tratament., (f). Pacient V.P. 6 luni după tratament.

Cazul 2:

Pacient S.P., în vârstă de 44 ani, sex masculin, se află de mai mulți ani sub tratament parodontal nechirurgical de menținere, se prezintă în clinică acuzând dureri difuze ale gingiilor, jenă dureroasă și dificultate la masticăție prin instabilitate ocluzală, sângerare spontană și provocată a gingiilor, miros fetid al gurii, abcese parodontale repetate. Examenul clinic pune în evidență pungi parodontale cu adâncimi până la 7 – 11 mm, cu sângerare la palpare, exudat purulent abundent, mobilitate dentară (pana la gradul 3), placă bacteriană abundentă.

Diagnostic: parodontită marginală cronică generalizată gravă (Figura 4.7.a.b.c.d.).



Fig.4.7.(a). Pacient S.P. până la tratament. (b). Ortopantomografia pacient S.P. până la tratament.

Planul de tratament: scalarea și planarea radiculară (SRP), complementată cu ozonoterapia sistemică (autohemoterapie majoră și infiltrații submucoase de ozon medical) și aplicații topice de ulei ozonat semisolid.



Fig.4.7.(c). Pacient S.P. după tratament. (d). Pacient S.P. 1 lună după tratament.



Fig.4.7.(e). Pacient S.P. la 3 luni după tratament. (f). Pacient S.P. la 6 luni după tratament.

În urma analizei rezultatelor tratamentului clasic nechirurgical, complementat cu ozonoterapia sistemică și topică, a fost creat un algoritm nou de tratament complex al PMC grave (vezi Anexa 3.), care constă în următoarele:

După efectuarea tratamentului parodontal clasic nechirurgical (scalarea și planarea radiculară (SRP)), complementar se aplică ozon medical administrat sistemic (AHTM) 6 sedințe, o dată la 3 zile, cu o concentrație de 25-35 mg/mL O_2-O_3 , urmat de infiltrații submucoase de ozon medical cu o concentrație de 5 - 10 mg/mL, la limita dintre mucoasa fixă și cea mobilă, la fiecare al 3-lea -al 4-lea dinte, în volum de 0,5 – 1 ml O_2-O_3 , astfel încât să cuprindă în totalitate maxilarul superior și apoi inferior și aplicații topice de ulei ozonat semisolid pe arcadele dentare, utilizând gutiere individualizate confecționate în

laboratorul dentar. Uleiul ozonat semisolid se aplică inițial în gutiere, apoi gutierele se aplică pe arcadele dentare, se mențin timp de 15-30 min., după care se scot și CB se clătește cu apă.

4.7 Concluzii la capitolul 5

1. Patogeneza bolii parodontale este multifactorială, în acest context acțiunea benefică multidirecțională a ozonului medical asupra organismului uman poate fi considerată un instrument terapeutic foarte valoros.
2. A fost elaborată și utilizată în practică o metodă eficientă de administrare a ozonului medical în formă de infiltrații submucoase și în formă de aplicații pe arcadele dentare a uleiului ozonat semisolid, asigurându-se o micșorare considerabilă a contaminării bacteriene în pungile parodontale și o stimulare a proceselor reparatorii, evaluată în baza înregistrării indicilor clinici. Rezultatul obținut a condus la diminuarea mai rapidă a fenomenelor inflamatorii în țesutul parodontal și menținerea de durată mai mare a stării de igienă orală, în comparație cu tratamentul clasic.
3. Analiza comparativă a rezultatelor a relevat o reducere a cantității totale de germeni și a demonstrat eficiența complementării tratamentului parodontal clasic nechirurgical cu ozonoterapia sistemică și topică, în comparație cu tratamentul clasic. Cu toate acestea, îmbunătățirea obținută a fost urmată de o recolonizare cu bacterii parodontopatogene, favorizată de profunzimea pungilor parodontale, care la 3 luni a ajuns la valorile inițiale.
4. Nivelul sangvin crescut al enzimei sistemului AO - superoxid dismutaza, a arătat că supraproducția de specii reactive de oxigen, implicate în dezvoltarea unor condiții și boli degenerative, este asociată cu parodontita marginală cronică gravă. Analiza în dinamică a funcționalității SOD a relevat faptul că, administrarea sistemică de ozon medical reprezintă un element cheie în terapia antioxidantă și a demonstrat o eficiență extraordinară a ozonului medical.
5. Analiza dopplerogramelor - LDF a indicat tulburări hemodinamice grave existente la nivelul microcirculației în țesutul parodontal, la pacienții cu parodontită marginală cronică gravă. Aplicarea sistemică și locală a ozonului medical a condus la restabilirea microhemodinamicii la nivelul țesutului parodontal.
6. Complementarea tratamentului complex al PMC grave, cu ozon medical a fost optimă și eficientă, argumentată clinic și paraclinic în baza cercetării metodelor clinice, datelor microbiologice și funcționale care s-a soldat cu elaborarea unui algoritm nou de tratament complex al PMC grave.

CONCLUZII GENERALE

1. Valoarea medie a indicelui de sângerare papilară în lotul de control s-a redus după tratament de la 77,8% ($p<0,01$) la 9,4% ($p<0,001$), îmbunătățire menținută timp de 1 lună, fiind urmată de o creștere treptată, ajungând la 3 luni aproape de valorile inițiale. Totodată, lotul tratat complementar cu ozon medical a prezentat o reducere mai mare a valorii medii a indicelui de sângerare papilară după tratament, de la 83,8% ($p<0,01$) la 6,9% ($p<0,001$), îmbunătățire menținută timp de 3 luni, fiind urmată de o creștere treptată, ajungând la 6 luni aproape de valorile inițiale. Rezultatul obținut a condus la diminuarea rapidă a fenomenelor inflamatorii în țesutul parodontal și menținerea de durată mai mare a stării de igienă orală, în comparație cu tratamentul clasic.
2. Analiza comparativă a rezultatelor a relevat o reducere a cantității totale de germeni: în lotul de control cu 11,3% ($p<0,01$) după tratament iar la 1 lună după tratament o creștere cu 5,3% ($p<0,01$) peste valorile inițiale, totodată lotul tratat complementar cu ozon medical a prezentat o scădere cu 16,7% ($p<0,01$) după tratament și la 1 lună după tratament era scăzut cu 6,9% ($p<0,001$) față de valorile inițiale. Pe de altă parte, nu a existat nici o diferență semnificativă între loturi la 3 luni ($p>0,05$) [16]. Prin urmare, profunzimea pungilor parodontale mai mare de 6 mm prezintă un factor important de limitare în instrumentarea adecvată a acestora, iar înlăturarea acestui factor poate necesita management chirurgical.
3. În lotul tratat cu ozon medical, numărul pacienților cu nivelul sangvin al enzimei sistemului antioxidant superoxid dismutaza în normă a crescut de la 11,36% ($p>0,05$) la 84,09% ($p<0,001$) după tratament și la 95,45% ($p<0,001$) la 1 lună după tratament, ajungând la 100% ($p<0,001$) la 3 luni după tratament și menținându-se în normă la 6 luni după tratament [18]. Modularea activității enzimice a superoxid dismutazei a contribuit la reglarea protecției antioxidante împotriva stresului oxidativ, implicat în patogeniza parodontitei marginale cronice grave și a condus la echilibrarea homeostaziei redox.
4. Valorile medii ale nivelului de microcirculație (M) în lotul de control au crescut după tratament cu 9,96% ($p<0,001$) și după 1 luna de la tratament erau crescute cu 1,42% ($p<0,001$), revenind aproape în totalitate la valorile inițiale. Respectiv valorile medii ale indicelui eficacității microcirculației (IEM) au scăzut după tratament cu 20,92% ($p<0,001$) și după 1 luna de la tratament erau scăzute cu 1,4% ($p<0,001$), revenind

aproape în totalitate la valorile inițiale. În lotul tratat complementar cu ozon medical valorile medii ale nivelului de microcirculație (M) au crescut după tratament cu 15,48% ($p < 0,001$), au continuat să crească după 1 lună de la tratament până la 22,52% ($p < 0,001$) și după 3 luni de la tratament erau crescute cu 14,32% ($p < 0,001$). Respectiv valorile medii ale indicelui eficacității microcirculației (IEM) au crescut după tratament cu 26,61% ($p < 0,001$), erau crescute după 1 lună de la tratament cu 18,61% ($p < 0,001$) și după 3 luni de la tratament erau crescute cu 10,82% ($p < 0,001$). Aplicarea sistemică și topică a ozonului medical a condus la creșterea valorilor medii ale nivelului de microcirculație (M) și indicelui eficacității microcirculației (IEM), ceea ce a caracterizat restabilirea microhemodinamicii la nivelul țesutului parodontal, valori care au scăzut treptat, ajungând la 6 luni după tratament aproape de valorile inițiale [17].

5. Conform datelor studiului dat alegerea concentrației de 25-35 mg/mL O_2-O_3 în aplicarea sistemică și de 5-10 mg/mL O_2-O_3 în aplicarea locală, urmată de aplicații topice pe arcadele dentare ale uleiului ozonat semisolid, 6 ședințe, o dată la trei zile, în tratamentul complex al parodontitei marginale cronice grave, a fost optimă și eficientă, argumentată în baza cercetării metodelor clinice, datelor microbiologice și funcționale [207].
6. Rezultatul terapeutic obținut a demonstrat eficiența complementării tratamentului parodontal clasic nechirurgical la pacienții cu parodontită marginală cronică gravă cu ozon medical, aplicat sistemic și topic, în comparație cu tratamentul clasic.
7. Din punct de vedere științific, studiul a contribuit la consolidarea considerabilă a cunoașterii modalităților de aplicare a ozonului medical în stomatologie, iar din punct de vedere practic, pentru prima dată a fost elaborat și utilizat un algoritm nou de tratament complex al PMC grave, prin aplicarea sistemică și topică a ozonului medical.

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Analiza patogenică a PMC grave conduce la concluzia că, complementarea tratamentului complex al PMC grave cu ozon medical reprezintă o etapă indispensabilă în îmbunătățirea rezultatului scontat.
2. Având în vedere că majoritatea pacienților cu PMC gravă prezintă un anumit grad de dezechilibru a sistemului de antioxidare, concentrația inițială aleasă a O_2-O_3 în AHTM trebuie să fie de 15-25 mg/mL O_2-O_3 , urmată de o creștere treptată, cu 5 mg/mL O_2-O_3 la fiecare ședință ulterioară, până la concentrația de 35 mg/mL O_2-O_3 .
3. În scopul reducerii acțiunii factorului etiologic microbial și stimulării proprietăților de reparare și regenerare a țesutului parodontal se recomandă aplicarea uleiului ozonat semisolid. Metoda de preparare și aplicare a uleiului ozonat semisolid este descrisă în capitolul 2.
4. În scopul îmbunătățirii troficității și microhemodinamicii la nivelul țesutului parodontal se recomandă aplicarea infiltrațiilor submucoase cu O_2-O_3 câte 0,5 – 1 ml la limita dintre mucoasa fixă și cea mobilă, cu o concentrație de 5 - 10 mg/mL O_2-O_3 , o dată la 3 zile.
5. În scopul obținerii unor înregistrări LDF stabile și exacte a microcirculației sangvine capilare în țesutul parodontal, se recomandă confecționarea amprente în ocluzie a arcadei dentare a pacientului, în care se introduce, în dreptul fiecărui segment, câte un tub de ghidare pentru sonda laser – Doppler. Metoda de aplicare a sondei este simplă, eficientă și foarte accesibilă din punct de vedere financiar.
6. Având în vedere că O_2-O_3 influențează activ sistemul de coagulare a sângelui prin inducerea unei hipocoagulări moderate, se recomandă o atenție deosebită în cazurile în care pacienții iau medicamente anti-plachetare sau anticoagulante, sau prezintă o tulburare de sângerare. Alte contraindicații pentru terapia cu ozon medical sunt: deficitul eritrocitar de G-6-PDH (favismul, anemie hemolitică acută), hipertiroidismul și leucemia.
7. Pentru a se obține remisiunea BP și menținerea pe termen mai lung a rezultatului obținut, se recomandă repetarea tratamentului propus la fiecare 4 - 6 luni.

BIBLIOGRAFIE

Surse bibliografice în limba Română:

1. Anca Mărculescu, M. Cernea, Veturia Nueleanu, N.A. Oros, R. Chereji. Rezistența microbiană față de antibiotic. Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Cluj-Napoca, Medicamentul Veterinar /vol.1, 2007, p. 44-51.
2. Andercou Octavian. Utilizarea fluximetriei Laser-Doppler în evaluarea microcirculației. Clinica II Chirurgică, UMF Cluj Napoca. 2011, p.1-6.
3. Biologie. Lecția 1. 2013, p.1-53.
http://media.tvrinfo.ro/media-tvr/other/201304/lectia-1_63165600.pdf
4. Caractere generale - virusuri. Curs 12 AMG - Virusologie. 2012, p.2-22.
<http://www.justmed.eu/files/ppt/Curs%2012%20AMG%20-%20Virusologie.%20Caractere%20generale.ppt>.
5. Caracteristicile legăturii covalente. Curs 09. p.9.
<http://oprean.xhost.ro/anorganica/cursuri1/Curs09.pdf>
6. Ceban Mihail, Postolachi Ilarion. Aspecte clinice ale traumei cronice parodontale ca factor de risc în etiologia parodontitelor cronice marginale. USMF „N. Testemițanu,, nr.4 (9). 2008, p. 305-309.
7. Chetruș Viorica. Tratamentul parodontitei marginale cronice prin utilizarea matricei în bază de biovitroceramică și collagen. Teză de doctor în științe medicale. Chișinău, 2005, p.96-106.
8. Ciobanu Sergiu. Tratamentul complex în reabilitarea pacienților cu parodontite marginale cronice. Teză de doctor habilitat în medicină. Chișinău, 2012, p.27-34.
9. Dragan Adriana. Ozonoterapia în bolile reumatice. 2015.
<http://www.romedic.ro/dr-tiron/articol/12053>
10. Dumitriu H.T. Parodontologie. Viața medicală Românească. București, 1997, p.351.
11. Etiologia bolii parodontale. Curs de parodontologie, Cap. 3.
http://www.parodontologie.ro/paro_curs/index.html?n=CAPIIIIEtioBoliParo.html
12. Fișă parodontală ZMK Bern. <http://www.periodontalchart-online.com/ro/>
13. Identificarea germenilor asociați parodontitei.
<https://www.synevo.ro/identificarea-germenilor-asociati-parodontitei/>
14. Mihail Barbuț, Ozonoterapia în tratamentul parodontitei agresive. p.386-390.
http://library.usmf.md/old/downloads/anale/vol_4_xiv/xiv_4_p386-443_9_Stomatologie_terapeutica.pdf
15. Maria Negucioiu, Liana Sipos Lascu, L. Pascu, Importanța examenului clinic și diagnosticarea cazurilor de “trauma ocluzală”. Clujul medical, vol. LXXII 1999, nr.3, p.334-340.
16. Pîrgari A., Nicolau Gh. Evaluarea proprietății antimicrobiene a oxigenului activ în forma sa alotropă în tratamentul complex al parodontitelor marginale cronice forma gravă. În: Medicina stomatologică, nr.1/2 (38-39)/ 2016, p. 61-65.
17. Pîrgari A. Evaluarea acțiunii oxigenului activ în forma sa alotropă asupra microcirculației sanguine în țesutul parodontal prin metoda fluximetriei laser - Doppler, în tratamentul complex al parodontitelor marginale cronice forma gravă. În: Medicina stomatologică, nr.1/2 (38-39)/ 2016, p. 65-70.

18. Pîrgari Andrei. Efectul ozonului medical asupra nivelului seric al markerului superoxid dismutaza (SOD) în tratamentul complex al parodontitelor marginale cronice. În: MJHS, Revista de Științe ale Sănătății din Moldova. Chișinău, 2016, Nr.8 (2), p.47-55.
19. Rozalia Nitu, Delia-Irina Corol, N. Toma. Radicali liberi in sisteme biologice; efectele lor citogenetice. Institutul de Genetică, Universitatea din Bucuresti, Institutul National de C&D pentru Fizica si Inginerie Nucleara “Horia Hulubei”, Bucuresti. 2015, p.17-24. <http://ebooks.unibuc.ro/biologie/biotehnologie/articolul2.pdf>
20. Societatea Științifică Română de Oxigen – OzonoTerapie (SSROOT). 2015. <http://www.asociatia-ozonoterapie.ro/>
21. Superoxid-dismutaza. <https://www.synevo.ro/superoxid-dismutaza/>
22. Vataman Marius Radu. Cercetări privind eficiența terapiei pungilor parodontale. Iași, 2011, p.3-4.

Surse bibliografice în limba rusă

23. Аркадьева Г. Е., Виноградова А.Н. Микробиоценоз ротовой полости в норме и некоторых патологических состояниях. <http://www.epid.ru/docs/infdoc11.html>
24. Антонишина Б.В. Минеральный состав альвеолярной кости в процессе ее формирования. I съезд Ассоциации стоматологов Украины. К., 1999, с. 58 -59.
25. Балуда В. П. Физиология системы гемостаза. М. Медицина. 1995, с.238.
26. Безрукова И. В. Озонотерапия воспалительных заболеваний пародонта. Пародонтология. 2002, №1, с.3-7.
27. Безруков А. П. Пародонтология. М. ЗАО «Стоматологический научный центр». 1999, с.336.
28. Белоусов Н. Н., Буланов В. И. Проблемы обследования и диагностики при заболеваниях пародонта. Стоматология. 2004, с.19-20.
29. Большая Советская Энциклопедия. Озон. 2015. <http://bse.sci-lib.com/article083854.html>
30. Борисов Л.Б. Учебник по микробиологии для студентов медицинских ВУЗОВ. 1983, с.128.
31. Боровский Е.В., Грошиков М.И., Патрикеев В.К., Барышева Ю.Д., Лемецкая Т.И. Терапевтическая стоматология. Изд.3, перераб. и доп. 1982. с.1-560.
32. Васильев И.Т., Марков И.Н., Мумладзе Р.Б., Белопольский А.А., Васина Т.А., Антибактериальное и иммуно-корректирующее действие озонотерапии при перитоните. Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. 1995, 154(3), с. 56–60.
33. Васина Т.А., Сидоров И.А., Зайцев В.Я. и соавт. Результаты применения озонированных растворов в клинике. Тез. I Всероссийской научно-практической конф.: Озон в биологии и медицине. Н. Новгород. 1992. с. 58.
34. Воложин А.И, Сашкина Т.И., Шулаков В.В., Агапов В.С., Смирнов С.Н. Роль активации фагоцитоза в механизме лечебного действия медицинского озона у больных с вялотекущими гнойными воспалительными процессами мягких тканей челюстно - лицевой области. Стоматология. 2001, N 6, с.22-24.
35. Вольнов И. И. Перекиси, надперекиси и озониды щелочных и щелочною земельных металлов. М., 1984. с. 123.

36. Горбачева И.А., Кирсанов А.И., Орехова Л.Ю. Единство системных патогенетических механизмов при заболеваниях внутренних органов, ассоциированных с генерализованным пародонтитом. Стоматология. 2004, с.23-28.
37. Григорьян А. С., Грудянов А. И., Рабухина Н. А., Фролова О. А. Болезни пародонта. Москва, Мединформагентство. 2004, с. 64-70.
38. Григорьян, А. С. Роль и место феномена повреждения в патогенезе заболевания пародонта. Стоматология. 1999, № 1, с. 16-20.
39. Грудянов А. И., Стариков Н. А., Баякова С. Ф. Поддерживающая терапия. Ее роль при лечении заболеваний пародонта. Пародонтология. 2001, №1, с. 24 – 27.
40. Грудянов А. И., Стариков Н. А. Заболевания пародонта и вопросы травматизации окклюзии в клинике ортопедической стоматологии. Новое в стоматологии. 1999. №4 (74), стр. 3 - 18.
41. Грудянов А.И., Дмитриева Л.А., Максимовский Ю.М. Современное состояние вопроса и направление научных разработок. Пародонтология. Стоматология. 1999. с. 5-9.
42. Грудянов А.И., Стариков Н.А. Лекарственные средства, применяемые при заболеваниях пародонта. Пародонтология. 1998, № 2 (8), с. 6-17.
43. Густов А. В., Котов С. А., Конторщикова К. Н., Потехина Ю. П. Озонотерапия в неврологии. (Пособие). Н. Новгород, 2001, с. 4-9.
44. Джонсон П. Дж. Периферическое кровообращение. М. Медицина. 1982, с.440.
45. Дмитриева Л. А., Романов А. Е., Царев В. Н. Клинические и микробиологические аспекты применения реставрационных материалов и антисептиков в комплексном лечении заболеваний пародонта. М. МЕД - пресс - информ. 2002, с. 96.
46. Дурново Н. А., Дубова Н. Б. Состояние антиоксидантной активности полости рта у больных с периоститами челюстей при использовании озона. В кн.: Озон и методы. эфферентной терапии в медицине. 1998, Тез. докл. III Всерос. науч.-практ. конф. Н. Новгород. с. 87.
47. Жажбаров А. Г. Озоно-воздушная терапия и гипербарическая оксигенация в комплексе лечения больных с острыми одонтогенными воспалительными процессами челюстно - лицевой области. Автореф. Дис. к.м.н. Алматы, 1998, с. 22.
48. Зайцев В. Т., Бойко В. В., Брусницына М. П. и др. Применение озонобилиосорбции в комплексе лечебных мероприятий у больных с холангитом на почве холедохолита. Гнойно-септические осложнения в неотложной хирургии. Тез. докл. науч.-практ. конф. хирургов Украины. Харьков, 1995, с. 142–144.
49. Зубач О., Черненко П. Озонотерапия в комплексном лечении лептоспироза (случай из клинической практики). Львовский национальный медицинский университет им. Д. Галицкого, К. О. «Медикаль», Львов, Украина. с.115.
50. Иванов В. С. Заболевания пародонта. 3-е изд., перераб. и доп. М. Мед. информ. Агентство. 1998, с. 301-306.

51. Иванченко С. А. Современное обоснование применения озона в медицине. 1998, с. 40–41.
52. Иванюшко Т. П., Ганковская Л. В., Ковальчук Л. В., Тер-Асатуров Г. П., Буданова Б. В. Комплексное изучение механизмов развития хронического воспаления при пародонтите. Стоматология. 2000, № 4, с.13- 16.
53. Иво Дризхал MUDr. Современные представления о зубном налете. Новое в стоматологии. 2001, № 10, с. 23-38.
54. Козлов В. И., Корси Л. В., Соколов В. Г. Анализ флуктуаций капиллярного кровотока у человека методом лазерной доплеровской флоуметрии. В кн.: «Применение лазерной доплеровской флоуметрии в медицинской практике» Материалы I Всероссийского симпозиума. М. 1996, с. 38–47.
55. Козлов В. И., Мач Э. С., Сидоров В. В. Инструкция по применению анализатора лазерного микроциркуляции крови компьютеризированного ЛАКК-02. М. 2002, с. 25.
56. Козлов В. И. Механизм модуляции кровотока в системе микроциркуляции и его расстройство при гипертонической болезни. Материалы II Всероссийского симпозиума «Применение лазерной доплеровской флоуметрии в медицинской практике». Москва. 2000. с. 5-16.
57. Колесов А. А., Каламбаров Х. А., Чупрынина Н. М. Роль травматических факторов в этиологии и патогенезе забоеваний пародонта. Стоматология. 1973, № 6, с. 70-74.
58. Кравец Ольга Николаевна. Выявление и коррекция нарушений свободнорадикального окисления в ротовой жидкости при хроническом генерализованном пародонтите. Диссертация кандидата медицинских наук. Казань, 2008.
59. Крегина Е. К. Динамика изменений капиллярного кровотока в тканях пародонта при его воспалительных заболеваниях. Применение лазерной доплеровской флоуметрии в медицинской практике. Материалы 2-го Всерос. симпозиума. М. 1998, с. 54-56.
60. Кречина Е. К. проф., Маслова В. В канд. мед. наук, Рахимова Э. Н канд. мед. наук, Шидоваа А. В. канд. мед. наук. Определение гемомикроциркуляции в тканях пародонта с использованием методов лазерной и ультразвуковой доплерограф. М. 2008, с. 18.
61. Кречина Е. К. Лазерная доплеровская флоуметрия при изучении состояния микроциркуляции в пародонте. Лазеры в стоматологии. М. 2000, с.78-80.
62. Кузнецов Е. В., Царев В. И. Микробная флора полости рта и ее роль в развитии патологических процессов. Терапевтическая стоматология: Учебн. Пособие / под ред. проф. Л.А. Дмитриевой. М. МЕДпресс - информ, 2003, с.178-212.
63. Лебеденко И. Ю., Ибрагимов Т. И., Ряховский А. Н. Функциональные и аппаратурные методы исследования в ортопедической стоматологии. Учебное пособие. М. 2003, с.128.
64. Логинова Н. К. Механическая теория – фундаментальная основа развитой теории этиологии и патогенеза заболеваний пародонта. Новое в стоматологии. 1993, № 4, с. 17 - 25.

65. Логинова Н. К. Функциональные предпосылки к разработке механической теории этиологии и патогенеза заболеваний пародонта. Новое в стоматологии. 1993, № 1, с. 2-8.
66. Мазур И. П. Остеотропная терапия в комплексном лечении заболеваний пародонта. Проблемы остеологии. 2001. Т.4, № 1 -2, с. 99-101.
67. Максимовский Ю. М., Чиркова Т. Д., Фролова Т. А. Клинико-иммунологические особенности патогенеза катарального гингивита. Стоматология. 2003. № 3. с. 24- 27.
68. Маланчук В. А. Циделко В. Д. Копчак А. В. Кузьмичев А. И. Озонотерапия в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. № 6(20) XI - XII 2000. с. 61-68.
69. Масленников А. В., Конторщикова К. Н. Озонотерапия. Внутренние болезни (пособие). Н. Новгород издательство НГМА, 1999, с.23-56.
70. Материалы по озонотерапии. Ассоциация российских озонотерапевтов. 2004. <http://www.ozonotherapy.ru/tehnologii-ozonoterapii/materialy-po-ozonoterapii/>
71. Машенко И. С., Сербиненко Е. В. Определение бактерицидного и антиоксидантного потенциала нейтрофильных гранулоцитов у больных генерализованным пародонтитом. Современная стоматология. 2003. № 1, с.51-53.
72. Механизмы действия медицинского озона. Ассоциация российских озонотерапевтов. 2015. <http://www.ozonotherapy.ru/ozonoterapiya/mehanizmy-dejstviya-meditsinskogo-ozo/>
73. Одинцов Ю. Н., Перельмутер В. М. Инфекционный процесс как форма симбиоза популяций патогенных бактерий человека. Сибирский мед. журнал. 2002. № 1- 2, с. 45- 47.
74. Олег Зыбин. Озоном по дырам? 2007. <http://cleanwater-e.ru/index30.php>
75. Павловская Е. Е. Озонотерапия сахарного диабета. Автореф. дис. .канд. мед. наук. Н. Новгород, 1998, с. 24.
76. Перетягин С. П. Механизмы лечебного действия озона при гипоксии. Озон в биологии и медицине. Нижний Новгород, 1992, с. 4-5.
77. Петров Г. М., Кудрявцев Б. П., Акулич И. И. Эффективность применения препаратов озона в комплексном лечении параназальных синуситов. Воен. мед. журнал. № 12., 1996, с. 26-28.
78. Позднякова Б. Я., Велеге С., Жаденов И. И. Изменение чувствительности к антибиотикам микрофлоры ран при лечении комплексом «озон+повиаргол». Ниж. мед. Журнал. Приложение озонотерапия. 2005, с. 169 -171.
79. Приймак А. А., Калюк А. Н., Киргинцев А. Г. Воздействие озono-кислородной смеси на микобактерии туберкулеза и условно-патогенные микроорганизмы. Проб. Туберкулеза. 1991, (4), с.7-10.
80. Пыргарь А. Б. Медицинский озон в комплексном лечении генерализованного пародонтита. Нижегородский мед.журнал. Приложение озонотерапия. Россия. Н. Новгород, 2003, с. 188 -189.
81. Разумовский С. Д. Заиков Г. Е. Озон и его реакции с органическими соединениями, изд. Наука, Москва 1974. с. 322.

82. Савичук Н. О., Савичук А. В. Микроэкология полости рта, дисбактериоз и пути его коррекции. Современная стоматология. 2002, № 4, с.9-12.
83. Танкибаева Ж. Г. Обоснование озонотерапии в комплексном лечении генерализованного пародонтита. Автореф. дисс. канд. Алматы, 1998. с.25.
84. Томарева И. В. Кровообращение пародонта у людей с различными типами регионарной гемодинамики. Москва, 1998, с.22.
85. Фастовец А. А. Системные нарушения метаболизма костной ткани у больных генерализованным пародонтитом. Вестн. стомат. 2000, № 2, с. 15 – 17.
86. Центилю Т. Д. Состояние нуклеиновых кислот в тканях пародонта при пародонтозе и пародонтите. Врач, дело. 2003, № 1, с. 93- 95.
87. Цепов Л. М., Николаев А. И. Комплексное лечение воспалительных заболеваний пародонта: мечты или реальность? Пародонтология. 2002, № 4 с. 25.
88. Цимбалистов А. В., Барановский А. Ю. Полость рта как естественный резервуар *Helicobacter Pylori* у больных с неблагоприятным течением язвенной болезни. Материалы 3 Межд. Конф. челюстно-лицевых хирургов и стоматологов. СПб, МАПО. 1998, с. 72.
89. Чекман И. С., Сыровая А. О., Макаров В. А., Макаров В. В., Лапшин В. В., Шаповал Е. В. Озон и озонотерапия. Монография. Киев, 2013. с. 50-65.
90. Чернух А. М. Микроциркуляция. Монография. М. Медицина, 1975, с. 456.
91. Чуев П. Н., Иванченко С. А., Владыка А. С. Внутриклеточные механизмы лечебного действия озона при критических состояниях. 1998, с. 27–30.
92. Чупурнова И. Н. Остеопластика и озонотерапия в лечении генерализованного пародонтита тяжелой степени. 1996, Стоматология, спецвыпуск, с. 90–91.
93. Шаповалов В. Д., Михалева Л. М., Бархина Т. Г. Электронно-микроскопическая характеристика плазматических клеток при хроническом пародонтите. Иммунология. 2003, № 2. с. 70-74.
94. Шмагель К. В., Беляева О. В., Черешнева В. А. Современные взгляды на иммунологию пародонта. Стоматология. 2003. № 1, с. 61 – 64.
95. Шунтикова Е. В., Александров П. Н., Кожевникова Л. А., Изменения микроциркуляторного русла десны в норме и при экспериментальном пародонтите. Пат. физиология и эксперим. терапия. 1998, № 3, с. 18–20.

Surse bibliografice în limba engleză

96. Agapov V. S., Shulakov V. V., Fomchenkov N. A. Ozone therapy of chronic mandibular osteomyelitis. Stomatologiya (Mosk.) 2001, p.14-17.
97. Ahmad Haerian-Ardakani, D.D.S., Ph.D., Zia Eslami, M.D., Fahimeh Rashidi-Meibodi, D.D.S., M.Sc., Alireza Haerian, D.D.S., Pantea Dallalnejad, D.D.S., Marjan Shekari, D.D.S., Amir Moein Taghavi, D.D.S., M.Sc., and Solmaz Akbari, D.D.S. Relationship between maternal periodontal disease and low birth weight babies. M.Sc. Iran J Reprod Med. 2013 Aug; 11(8): 625–630.
98. Angew R. Ozonolysis Criegee Mechanism Criegee. Chem. Int. Ed. 1975. 2006. <http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/ozonolysis-criegee-mechanism.shtm>

99. Anna S. Oxygen - Ozone Treatment of the Knee Shoulder and Hip. *Rivista Italiana di Ossigeno-Ozonoterapia*. 2006, vol. 5. p. 135-144.
100. Antoszewski Z, Kulej J, Wygledowski M. et al. Some aspects of ozone therapy. *Przeg Lek*. 1997, p.561.
101. Aubourg, P., L'Ozone Medical: Production, Posologie, Modes d'Applications Cliniques. *Bull MedSoc Med Paris*. 1938, vol. 52, p. 745-749.
102. Azarpazhooh A, Limeback H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *J Dent*. 2008 Feb;36(2):104-16. doi: 10.1016/j.jdent.2007.11.008. Epub 2007 Dec 31.
103. Bae S. C, Kim S. J, Sung M. K. Inadequate antioxidant nutrient intake and altered plasma antioxidant status of rheumatoid arthritis patients. *J Am Coll Nutr*. 2003 Aug;22(4):311-5.
104. Baehni C., Tsai, C. C., McAzthar, W. R., Hammond, B.F., Faichman, N. S., Interaction of inflammatory cells and oral microorganisms. VIII Detection of leukotoxic activity of a plaque derived gram-negative microorganism. *Infection and Immunity*, 1979; 24, p. 233-243.
105. Baeuerle P. A., Henkel T. Function and activation of NF-kB in the immune system. *Annu Rev Immunol*. 1994;12:141-79.
106. Bailey P. S. Ozonation in Organic Chemistry. Vol. 1 Olefinic Compounds. New York: Academic Press. 1978, p. 15-146.
107. Barnes P. J., Karin M. Nuclear factor - kappa B: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med*. 1997 Apr 10;336(15):1066-71.
108. Basic Theory and Operating Principles of Laser Doppler Blood Flow. Monitoring and Imaging (LDF & LDI), Issue 1.
http://www.moor.co.uk/ckfinder/userfiles/files/Moor_Laser_doppler_theory_Issue_1.pdf
109. Baysan A., Lynch E. Management of root caries using ozone. London, 2002, p.3-11.
http://www.kavo.pl/img_cpm/global/files/global/healozone/19_Management_of_Root_Caries_using_Ozone_A.Baysan_E.Lynch.pdf
110. Beck E. G., Waßer G. H., R. Viebahn-Hänsler. Ozontherapie in Wissenschaft und Empirie. *Z. Komplement. Medizin*. 1998, 5: 61–75.
111. Beck, L. S., De Guzman L., Lee W. P., Xu Y., Siegel M. W., Amento E. P. One systemic administration of transforming growth factor- b1 reverses age- or glucocorticoidimpaired wound healing. *J Clin Invest*. 1993 Dec;92(6):2841-9.
112. Bettina Basrani. Endodontic Irrigation: Chemical disinfection of the root canal system. Springer. 2015, p. 220 - 226.
113. Bocci V, Paulesu L. Studies on the biological effects of ozone 1: Induction of interferon on human leucocytes. *Haematologica*. 1990 Nov-Dec;75(6):510-5.
114. Bocci V., Iacopo Zanardi, Valter Travagli. Ozone acting on human blood yields a hormetic dose-response relationship. *A Journal of Translational Medicine*. 2011.
<https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1479-5876-9-66>

115. Bocci V. Biological and clinical effects of ozone: Has ozone therapy a future in medicine? [Br J Biomed Sci.](#) 1999;56(4):270-9.
116. Bocci, V. Oxygen-ozone therapy. A critical evaluation. 2002, Kluwer Academic Publischer p. 234-440.
117. Bocci V. Ozon general physiology.
<http://www.ozonterapiklinigi.com/literatur/V-Bocci-ozon-general%20physiology.pdf>
118. Bocci V. Ozone - A new medical drug. Springer 2nd edition. 2011, p.17-218.
119. Bocci V. Ozonization of blood for the therapy of viral diseases and immunodeficiencies. Medical Hypotheses. 1992, 39: 30-34.
120. Bocci Velio, Borrelli Emma, Travagli Valter, Zanardi Iacopo. The ozone paradox: Ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. Medicinal Research Reviews Vol. 29, Issue 4, p. 646–682.
121. Bocci V. Ozone - A new medical drug. Springer 1st edition. 2005, p. 5-250.
122. Bocci, V., Paulesu L. Studies on the biological effects of ozone. Induction of interferon gamma on human leucocytes. [Haematologica.](#) 1990 Nov-Dec;75(6):510-5.
123. Brauner A. Clinical studies of therapeutic results from ozonized water for gingivitis and periodontitis. [Zahnarztl Prax.](#) 1991 Feb 8;42(2):48-50.
124. Brauner A.W. Ozone application in periodontology. 10-th ozone world congress. 1991, p. 55-63.
125. Burleson G. R, Caulfield M. J, Pollard M. Ozonation of mutagenic and carcinogenic polyaromatic amines and polyaromatic hydrocarbons in water. [Cancer Res.](#) 1979 Jun;39(6 Pt 1):2149-54.
126. Carpendale M. T., Griffiths J. Is there a role for medical ozone in the treatment of HIV and associated infections? Ozone in Medicine. Proceedings of the 11-th Ozone World Congress. San Francisco, 1993, 1: p.32 – 37.
127. Carpendale M. T. et al. Does ozone alleviate AIDS diarrhea? [J Clin Gastroenterol.](#) 1993 Sep;17(2):142-5.
128. Carpendale M. T., Freeberg J. K. Ozone inactivates HIV at noncytotoxic concentrations. [Antiviral Res.](#) 1991 Oct;16(3):281-92.
129. Carranza F. A. Jr., Saglie, R., Newman, M. G., Valentin, P. Scanning and transmission electron microscopic study of tissue-invading microorganisms in localized juvenile periodontitis. J. Periodontol. 1983, vol. 54, p. 598-603.
130. Caulfield M. J., Burleson G. R., Pollard M. Ozonation of mutagenic and carcinogenic alkylating agents. pesticides, aflatoxin B1, and benzidine in water. [Cancer Res.](#) 1979 Jun;39(6 Pt 1):2155-9.
131. Chung J. M. The role of reactive oxygen species (ROS) in persistent pain. [Mol Interv.](#) 2004 Oct;4(5):248-50.
132. Coppola L, Giunta R, Verrazzo G, Luongo C, Sammartino A, Vicario C, et al. Influence of ozone on hemoglobin oxygen affinity in type-2 diabetic patients with peripheral vascular disease: in vitro studies. [Diabete Metab.](#) 1995 Oct;21(4):252-5.
133. Costerton J. W., K.J. Cheng, G. G. Geesey, T. I. Ladd, J. C. Nickel, M. Dasgupta, and T. J. Marrie. Bacterial biofilms in nature and disease. [Annual Review of Microbiology.](#) 1987;41:435-64.

134. Cruz O., Menende S., Martinez M.E. et al. Application of ozonized oil in the treatment of alveolitis. *Ozone-News*. 1997, 25 (4) : p.47.
135. Daisuke Ekuni, Maurizio Battino, Takaaki Tomofuji. *Studies on Periodontal Disease*. Springer, 2014, p. 6 – 9.
136. Dale Kiefer. Superoxide Dismutase Boosting the Body's Primary Antioxidant Defense. *Life Extension Magazine*. June 2006, p.1-9.
http://www.lifeextension.com/magazine/2006/6/report_sod/page-01
137. Davey M.E., O'Toole G.A. Microbial biofilms: From ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2000 Dec; 64(4): 847–867.
138. De Maria, N., Colantoni A., Fagioli S., Liu G.-J., Rogers B. K., Farinati F., van Thiel D. H., and Floyd R. A. Association between reactive oxygen species and disease activity in chronic hepatitis C. *Free Radic Biol Med*. 1996;21(3):291-5.
139. Demarini, D. M., A. Abu-shakra, C. F. Felton, K. S. Patterson, and M. L. Shelton. Mutation spectra in Salmonella of chlorinated, chloraminated, or ozonated drinking water extracts: comparison to MX. *Environ Mol Mutagen*. 1995;26(4):270-85.
140. Díaz, M. F., Gavín, J. A., Gómez, M., Curtielles, V., Hernández, F. *Ozone*. *Sci. Eng*. 2006, p.28- 59.
141. Drake D. Antibacterial activity of baking soda. *Journal of Food Science* 53(3):981 - 982·August 2006.
142. Drisko C. H. Trends in surgical and nonsurgical periodontal treatment. *JADA* June 2000 Volume 131, Supplement 1, Pages 31S–38S.
143. Duckers, H. J., Boehm M., True A. L., Yet S. F., San H., Park J. L., Clinton W. R., Lee M. E., Nabel G. J., Nabel E. G. Heme oxygenase-1 protects against vascular constriction and proliferation. *Nat Med*. 2001 Jun;7(6):693-8.
144. El-Shinnawi U, Soory M. Actions of Adjunctive Nutritional Antioxidants in Periodontitis and Prevalent Systemic Inflammatory Diseases. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2015;15(4):261-76.
145. Elvis A. M., Ekta J. S. Ozone therapy: A clinical review. *J Nat Sci Biol Med*. 2011 Jan;2(1):66-70. doi: 10.4103/0976-9668.82319.
146. Fattman C. L., Schaefer L. M, Oury T. D. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radic Biol Med*. 2003 Aug 1;35(3):236-56.
147. Filippi Andreas. The Influence of Ozonized Water on the Epithelial Wound Healing Process in the Oral Cavity. In: *Proceedings of the 15th Ozone World Congress, 11th - 15th September 2001, Medical Therapy Conference IOA 2001*, Ed. p.186.
148. Flemmig T. F., Petersilka G. J., Mehl A., Rudiger S., Hickel R., Klaiber B. Working parameters of a sonic scaler influencing root substance removal in vitro. *Clin Oral Investig*. 1997 Jun;1(2):55-60.
149. Freeberg J. K. et al. Ozone inactivates extracellular human immunodeficiency virus at non-toxic concentrations. *Fourth Intl Conf AIDS, Stockholm, abstract, 1988*. p.35-60.

150. Garber G. E. et al. The use of ozone-treated blood in the therapy of HIV infection and immune disease: a pilot study of safety and efficacy. AIDS. 1991 Aug;5(8):981-4.
151. Genco R. J., Loe H. The role of systemic conditions and disorders in periodontal disease. Periodontol 2000. 1993 Jun;2:98-116.
152. George Freedman., Contemporary Esthetic Dentistry. 1st Edition 2011. p. 582-599.
153. Gérard V. Sunnen, M.D. The utilization of ozone for external medical applications.1998. 2015. <http://www.the-o-zone.cc/book/bookch/ch12.html>
154. Gregorio Martinez-Sanchez, Livan Delgado-Roche, Arquimides Diaz-Batista, Gema Perez-Davison, Lamberto Re. Effects of ozone therapy on haemostatic and oxidative stress index in coronary artery disease. European Journal of Pharmacology 691(1-3):156-62·July 2012.
155. Gregorio Martínez-Sánchez, Saied M. Al-Dalain, Silvia Menéndez, Lamberto Re, Attilia Giuliani, Eduardo Candelario-Jalil, Hector Álvarez, José Ignacio Fernández-Montequín, Olga Sonia León. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. European Journal of Pharmacology 523 (2005) 151–161.
156. Guljot Singh, D. S. Mehta, Shruti Chopra, Manish Khatri. Comparison of sonic and ionic toothbrush in reduction in plaque and gingivitis. J Indian Soc Periodontol. 2011 Jul;15(3):210-4. doi: 10.4103/0972-124X.85662.
157. Haffajee A. D., Socransky S. S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. Periodontol 2000. 1994 Jun;5:78-111.
158. Häkkinen L., Oksala O., Salo T., Rahemtulla F., Larjava H. Immunohistochemical localization of proteoglycans in human periodontium. J Histochem Cytochem. 1993 Nov;41(11):1689-99.
159. Halliwell, B. Antioxidants in human health and disease, Annu Rev Nutr.1996;16:33-50.
160. Hans Georg Eberhardt. The Efficacy of Ozone Therapy as an Antibiotic.1993. <http://www.oxygenhealth.com/oxyfiles/OXY00540.HTM>
161. Hirschtick R.E. et al. Death from an unconventional therapy for AIDS (letter). Ann Intern Med. 1994 Apr 15;120(8):694.
162. Hodgeand P. Michalowicz B. Genetic predisposition to periodontitis in children and young adults. Periodontology, vol. 26, no. 1, 2001. p. 113–134.
163. Holmes Julian. Ozonated Liquids in Dental Practice – A Review. Lime Technologies Holdings Ltd, Clinical Director. April 2008. <http://www.the-o-zone.cc/research/abstracts/o3liquids/o3lpt08.pdf>
164. Hooker M. H. et al. Ozone-treated blood in the treatment of HIV infection. AIDS, 1992. 6: p.127-138.
165. Hoigne J., H. Bader. The role of hydroxyl radical reactions in ozonation processes in aqueous solutions. Water Res, 10, 1976, p. 377–386.
166. Iacopino Anthony M., DMD, PhD. Relationship Between Stress, Depression and Periodontal Disease. JCDA • www.cda-adc.ca/jcda • June 2009, Vol. 75, No. 5 • p.329–330.

167. Jia L., Bonaventura C., Bonaventura J., Stamler J. S. S-nitrosohaemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature*, 1996, 380: p.221-226.
168. Karl F. Haug, Heidelberg, Professor Siegfried Rilling, M.D., Renate Viebahn, Ph.D., co-authors. *Classic medical ozone text book*. 1987, p.14 – 17.
169. Khalifa A. M, El Temsahy M. M, Abou El Naga I. F. Effect of ozone on the viability of some protozoa in drinking water. *J Egypt Soc Parasitol*. 2001 Aug;31(2):603-16.
170. Khocht A, Zohn H, Deasy M, Chang K. M. Screening for periodontal disease: radiographs vs. PSR. *J Am Dent Assoc*. 1996 Jun;127(6):749-56.
171. Khuller N., Sharma N. Trends In Periodontal Treatment (Surgical And Non-Surgical). A Review. *The Internet Journal of Dental Science*. 2008 Volume 7 Number 2.
172. Knoch H. G., R. Viebahn-Hänsler, Z. Fahm. *Ärztliche Gesellschaft für Ozonanwendung in Prävention und Therapie*. 2009. Guidelines. Baden-Baden, Germany. p.161–173.
173. Kornman K. S., Crane A., Wang H. Y., di Giovine F. S., Newman M. G., Pirk F. W., Wilson T. G. Jr, Higginbottom F. L., Duff G. W. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1997 Jan;24(1):72-7.
174. Kotler, D. P. HIV infection and lipodystrophy. *Prog Cardiovasc Dis*. 2003 Jan-Feb;45(4):269-84.
175. Lemus L, Ordaz E. Application of Oleozon in the Treatment of Subprosthesis Stomatitis. 2nd International Symposium on Ozone Applications. Havana, Cuba, 1997.
<http://www.o3center.org/Abstracts/ApplicationofOleozonintheTreatmentofSubprothesisStomatitis.html>
176. Leontyeva G. V., Kolesova O. E. Non-specific mechanisms of sanogenic effect of ozone. Moscow; Nizhny Novgorod, 2002.
<http://www.ozonterapiklinigi.com/literatur/Rusya%20Ozon%20Birli%C4%9Fi-Proceedings.pdf>
177. Liu YQ, Liu Y, Tay J. H. The effects of extracellular polymeric substances on the formation and stability of biogranules. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2004 Aug;65(2):143-8. Epub 2004 Jun 9.
178. Lohaus Justus Liebig, Criegee R. Ozone in polymer synthesis: clean synthesis of telechelic oligomers and block copolymers. *Polymer and Biomaterials Chemistry Laboratories*. University of Bradford. 2015.
<http://polymerbiomaterials.com/index.php/sample-page-2/ozone-in-polymer-synthesis-clean-synthesis-of-telechelic-oligomers-and-block-copolymers/>
179. Lynch E, Grootveld M, Holmes J, Silwood CJ, Claxson AWD, Prinz J, Toms H. Analysis of Ozone treated Grape seed, Olive and Sunflower Oils. 1H NMR AADR Abstract. 2003, no.182. <http://www.the-o-zone.cc/research/researchm/>
180. MacFarlane T.W., Samaranayake L.P. *Clinical Oral Microbiology*. London, Wright, 1989. p.223.
181. Maier C. M., Chan P. H. Role of superoxide dismutases in oxidative damage and neurodegenerative disorders. *Neuroscientist*. 2002 Aug; 8(4):323-34.

182. Malanchuk V., Kopchak A., Dovbysh N. Ozonotherapy in prevention of inflammatory complications of jaw fractures. 2. nd. Congress. of the Polish association for oral and maxillofacial surgery. Cracow, 1999, p.57.
183. Malcolm Harris, Michael Edgar. Clinical Oral Science. Great Britain, Wright, 1998. p. 223.
184. Marsh PD. Do bacterial markers exist in subgingival plaque for predicting periodontal disease susceptibility? In: Johnson NW (ed) Risk Markers for Oral Diseases, vol. 3. Periodontal Disease, Cambridge University Press. 1991, p. 365-388.
185. Martin, P. Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. Science. 1997, 276: 75-81.
186. Massimo Costalongaa, Mark C. Herzbergb. The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. [Immunol Lett. 2014 Dec; 162\(2 0 0\): 22–38.](#)
187. Malanchuk V.A., Kopchak A.V., Gershun N.A, Pechena S.V., Jatcenko D.V. Ozone use in facial bone surgery. Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery. 2000, vol.28, Supplement 1.p .51.
188. Menabde G.T., Natroshvili N.D., Natroshvili T.D. Ozonotherapy for the treatment of parodontitis. [Georgian Med News.](#) 2006 May;(134):43-6.
189. Mendoza - Núñez V.M., Hernández - Monjaraz B., Santiago - Osorio E., Betancourt - Rule J.M., Ruiz - Ramos M. Tai Chi exercise increases SOD activity and total antioxidant status in saliva and is linked to an improvement of periodontal disease in the elderly. [Oxid Med Cell Longev.](#) 2014;2014:603853. doi: 10.1155/2014/603853. Epub 2014 Mar 26.
190. Micheli V., Ricci C., Taddeo A., Gili R. Centrifugal fractionation of human erythrocytes according to age. 1985, comparison between Ficoll and Percoll density gradients, Quad. Sclavo. Diagn. 21:236-248.
191. Mohinder Bansal, Naveen Kaushal., Oxidative Stress Mechanisms and their Modulation. 2014. p.165-167.
192. Morisco F., Verde V., Fogliano V., Ritieni A., Marmo R., De Luise G., Tuccillo C., Caporaso N. Oxidative status in chronic hepatitis C: The influence of antiviral therapy and prognostic value of serum hydroperoxide assay. [Free Radic Res.](#) 2004 Jun;38(6):573-80.
193. Morita T., Kourembanas S. Endothelial cell expression of vasoconstrictors and growth factors is regulated by smooth muscle cell-derived carbon monoxide. J Clin Invest. 1995 Dec; 96(6): 2676–2682.
194. Nathália R. de Almeida, Adilson Beatriz, Ana Camila Michelettia, Eduardo J. de Arrudab. Ozonized vegetable oils and therapeutic properties: A review. Orbital, vol 4, No. 4, 2012, p. 313-326.
195. Nath S.G., Ranjith Raveendran. Microbial dysbiosis in periodontitis. [J Indian Soc Periodontol.](#) 2013 Jul;17(4):543-5. doi: 10.4103/0972-124X.118334.
196. Nath S.G., Ranjith Raveendran. What is there in a name?: A literature review on chronic and aggressive periodontitis. J Indian Soc Periodontol. 2011 Oct-Dec; 15(4): 318–322.

197. Nogales C.G., Ferrari P.H., Kantorovich E.O., Lage-Marques J.L. Ozone therapy in medicine and dentistry. [J Contemp Dent Pract.](#) 2008 May 1;9(4):75-84.
198. Okadaand H. Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, vol. 9, no. 3, 1998. p. 248-266.
199. Ozonated Olive Oil. <https://www.absoluteozone.com/ozonated-olive-oil.html>
200. Papakonstadinu E, Boariu M, Cîrligeriu L, Nica L, Marinescu A. Clinical and microbiological effects of scaling and root planing in periodontal disease. *Cercetări Experimentale & Medico-Chirurgicale XV(4)*: 2008, p. 203-209.
201. Paulesu, L., Luzzi E., Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: Induction of tumor necrosis factor (TNF-a) on human leucocytes, Lymphokine Cytokine. 1991, Res. 10: 409-412.
202. Pejicic A., Kojovic D., Mirkovic D., Balkan I., Minic Stem Cells for Periodontal Regeneration. [Balkan J Med Genet.](#) 2013 Jun;16(1):7-12. doi: 10.2478/bjmg-2013-0012.
203. Peter B. Lockhart, Ann F. Bolger, Panos N. Papapanou, Olusegun Osinbowale, Maurizio Trevisan, Matthew E. Levison, athryn A. Taubert, Jane W. Newburger, Heather L. Gornik, Michael H. Gewitz, Walter R. Wilson, Sidney C. Smith, Larry M. Baddour. Periodontal Disease and Atherosclerotic Vascular Disease: Does the Evidence Support an Independent Association? A Scientific Statement From the American Heart Association. 2012.
<http://circ.ahajournals.org/content/125/20/2520.full>
204. Philippe Bidault, Fatiha Chandad, Daniel Grenier. Systemic Antibiotic Therapy in the Treatment of Periodontitis. In *Journal of the Canadian Dental Association (JCDA)*, July/August 2007, vol.73, No.6, 515-519.
205. Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats and Waxes. Edited by D. Firestone, 2th. AOCS, 2006, p. 1–57.
206. Pîrgari Andrei. The use of medical ozone in dentistry. in: *Curierul medical. Chişinău*, vol.59, nr. 4/2016, p. 45 - 56.
207. Pîrgari Andrei. Application of medical ozone in complex treatment of severe chronic marginal periodontitis. În: *Curierul Medical. Chişinău*, vol.59, nr. 4/2016, p. 21 – 28.
208. Pinchback J. S., Taylor B. A., Gibbins J. R., Hunter N. Microvascular angiopathy in advanced periodontal disease. [J Pathol.](#) 1996 Jun;179(2):204-9.
209. Pryor W. A., Squadrito G. L., Friedman M. The cascade mechanism to explain ozone toxicity: the role of lipid ozonation products. [Free Radic Biol Med.](#) 1995 Dec;19(6):935-41.
210. R. Viebahn - Haensler. *The Use of Ozone in Medicine*. 4th english edition. 2002, p. 24-32.
211. Ranjana Mohan, Ruhi Mark, Ipsa Sing, Ankita Jain. Diagnostic Accuracy of CBCT for Aggressive Periodontitis. *J Clin Imaging Sci.* 2014; 4(Suppl 2): 2.
212. Regnault C, Soursac M, Roch-Arveiller M, Postaire E, Hazebroucq G. Pharmacokinetics of superoxide dismutase in rats after oral administration. [Biopharm Drug Dispos.](#) 1996 Mar;17(2):165-74.

213. Renate Viebahn-Hänsle. The Use of Ozone in Medicine. 5th English edition 2007. p.10 – 48.
214. Renate Viebahn-Hänsle. The Use of Ozone in Medicine. Mechanisms of Action. 2003. <http://www.o3center.org/Articles/TheUseofOzoneinMedicine.pdf>
215. Renate Viebahn-Hänsler,¹ Olga Sonia León Fernández,² and Ziad Fahmy¹¹., Ozone in Medicine: The Low-Dose Ozone Concept—Guidelines and Treatment. 2012 : 408-424.
216. Reth M. Hydrogen peroxide as second messenger in lymphocyte activation. [Nat Immunol.](#) 2002 Dec;3(12):1129-34.
217. Rhee S. G., Bae Y. S., Lee S. R., Kwon J. Hydrogen peroxide: a key messenger that modulates protein phosphorylation through cysteine oxidation. [Sci STKE.](#) 2000 Oct 10;2000(53): pe1.
218. Riep B., Edesi-Neuss L., Claessen F., Skarabis H., Ehmke B., Flemmig T. F., et al. Are putative periodontal pathogens reliable diagnostic markers? J Clin Microbiol. 2009 Jun; 47(6): 1705–1711.
219. Riksen N. P., Rongen G. A., Blom H. J., Russel F. G., Boers G. H., Smits P. Potential role for adenosine in the pathogenesis of the vascular complications of hyperhomocysteinemia. 2003, Cardiovasc. Res. 59: 271-276 [CrossRef](#), [Medline](#).
220. Roehm J. N., Hadley J. G., Menzel D. B. Oxidation of unsaturated fatty acids by ozone and nitrogen dioxide. 1971; p.142-148.
221. Rokitansky O. Clinical considerations and biochemistry of ozone therapy. Hospitalis, 1982; 52: p.643-647.
222. Rokitansky Otto. Clinical Study and Biochemistry of Ozone Therapy in Peripheral Arterial Circulatory Disorders. Washington DC, 6th Ozone World Congress of the International Ozone Association. 1983, p.146.
223. Rokitansky O, Rokitansky A, Steiner J, Trubel W, Viebahn R, Washu'ttl J. Die Ozontherapie bei peripheren, arteriellen Durchblutungs-störungen; klinik, biochemische und blutgasanalytische Untersuchungen. In: Wasser IOA, Berlin: 5th OzoneWorld Congress, Germany, 1981: 53-75.
224. Romero M. J., Bosch-Morell F., Romero B., Rodrigo J. M., Serra M. A., Romero F. J., Serum malondialdehyde: possible use for the clinical management of chronic hepatitis C patients. 1998, Free Rad. Biol.Med. 25:p.993-997.
225. Safety aspects of ozone therapy. Contraindications. <http://www.medozons.com/ozone-therapy/safety-aspects-of-ozone-therapy.html>
226. Saglie F. R. Bacterial invasion and its role in the pathogenesis of periodontal disease. In: Hamada S, Holt SC, McGhee JR, (eds) Periodonlal Disease: Pulhogenf; and Hosi Immune Responses, Tokyo: Quintessence, 1991. p. 27-40.
227. Saglie F R, Carranza F A, Jr, Newman M G. The presence of bacteria within the oral epithelium in periodontal disease. I. A scanning and transmission electron microscopic study. 1985 Oct; 56(10):618-24.
228. Sami Aydogan and A. Seda Artis. How Ozone Treatment Affects Erythrocytes, Hemodynamics - New Diagnostic and Therapeutic Approaches, Dr. A Seda Artis (Ed.), ISBN: 978-953-51-0559-6, InTech, 2012.

<http://www.intechopen.com/books/hemodynamics-new-diagnostic-and-therapeutic-approaches/howozone-treatment-affects-erythrocytes>

229. Sandhaus S. Ozone therapy in odonto - stomatology, especially in treatments of infected root canals. *RevBelge Med Dent. French.*1965; 20(6):633.
230. Sandhaus S. Ozone therapy in oral surgery and clinical dentistry. *Zahnarztl Prax.* 1969 Dec 15;20(24):277-80.
231. Sang-Chul Kim, Ok-Su Kim, Ok-Joon Kim, Young-Joon Kim, Hyun-Ju Chung., Antioxidant profile of whole saliva after scaling and root planing in periodontal disease. *J Periodontal Implant Sci.* 2010 Aug;40(4):164-71. doi: 10.5051/jpis.2010.40.4.164. Epub 2010 Aug 30.
232. Sanseverino E. R. Knee joint disorders treated by oxygenozone therapy. *Eura Medicophys.* 1989, p.163-170.
233. Satheesh Mannem, Vijay K. Chava. The effect of stress on periodontitis. A clinic biochemical study. *J Indian Soc Periodontol.* 2012 Jul;16(3):365-9. doi: 10.4103/0972-124X.100912.
234. Saul Pressman. The Story of Ozone. DCh, LTOH c. 1994, p.1-9.
235. Schmid P., Cox D., Bilbe G., McMaster G., Morrison C., Stähelin H., Lüscher N., Seiler W. TGF- β s and TGF- β type II receptor in human epidermis: differential expression in acute and chronic skin wounds. 1993, *J. Pathol.* 171:191-197.
236. Scrimgeour C. Chemistry of Fatty Acids. In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products. 6 ed. vol 1. John Wiley & Sons, Inc. 2005, p. 1–56.
237. Seguí J, Gironella M, Sans M, Granell S, Gil F, Gimeno M, Coronel P, Piqué JM, Panés J. Superoxide dismutase ameliorates TNBS-induced colitis by reducing oxidative stress, adhesion molecule expression and leukocyte recruitment into the inflamed intestine. In: *J Leukoc Biol.* 2004 Sep;76(3):537-44. Epub 2004 Jun 14.
238. Seidler V, Linetskiy I, Hubáľková H, Stanková H, Smucler R. Ozone and its usage in general medicine and dentistry. A review article. *Prague Med Rep.* 2008;109(1):5-13.
239. Shin S. G, Kim J. Y, Chung H. Y, Jeong J. C. Zingerone as an antioxidant against peroxynitrite. *J Agric Food Chem.* 2005 Sep 21;53(19):7617-22.
240. Shinriki N., Ishizaki K., Yoshizaki T., Miura K., Ueda T. Mechanism of inactivation of tobacco mosaic virus with ozone. 1988, *Wat. Res.* 22: 933-938.
241. Shiratori R., Kaneco Y., Yamamoto Y. et al. Can ozone administration activate the tissue metabolism? A study on brain. metabolism during hypoxia. *Masui-Japanese J. Of Anestesthesiology.* 1993, 42(1), p.2-6.
242. Slavin J. The role of cytokines in wound healing. *J. Pathol.* 1996, 178: 5-10.
243. Slots J. et al. The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J ClinPeriodontol.* 1986, 13: 570-577.
244. Slots J., Listgarten M. A. *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetem comitans* in human periodontal diseases. *J Periodontol.* 1988, 15: 85-93.

245. Socransky S. S., Haffajee A. D., Cugini M. A., Smith C., Kent R. L. Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. [J Clin Periodontol](#). 1998 Feb;25(2):134-44.
246. Sporn M. B., Roberts A. B. A major advance in the use of growth factors to enhance wound healing. *J Clin Invest*. 1993 Dec; 92(6): 2565–2566.
247. Stone J. R., Collins T. The role of hydrogen peroxide in endothelial proliferative responses. *Endothelium*. 2002, 9: 231-238.
248. Su-Hwan Kim, Byoung-Moo Seo, Pill-Hoon Choung, Yong-Moo Lee. Adult Stem Cell Therapy for Periodontal Disease. *Int J Stem Cells*. 2010 May; 3(1): 16–21.
249. Sushma Das. Application of Ozone Therapy in Dentistry. *IJDA*. 2011, vol.03, Iss.02. p.538-542.
250. Taubman M. A., Valverde P., Han X., Kawai T. Immune response: the key to bone resorption in periodontal disease. [J Periodontol](#). 2005 Nov;76(11 Suppl):2033-41.
251. Tellez, G. M., Lozano, L. O., Gomes, M. F. Ozone. *D. Sci. Eng.* 2006, 28, 181.
252. Tina Miranda, M. D. Clinical uses of ozone therapy in the anti-aging setting . *Anti-Aging Therapeutics*. Volume 15. American Academy of Anti-Aging Medicine. 2014, Chapter 10.
253. Trivedi S., Lal N., Mahdi A. A., Singh B., Pandey S. Association of salivary lipid peroxidation levels, antioxidant enzymes and chronic periodontitis. [Int J Periodontics Restorative Dent](#). 2015 Mar-Apr;35(2): e14-9. doi: 10.11607/prd.2079.
254. Türk R., Ozontherapie in der zahnärztlichen Chirurgie. *Erfahrungsheilkunde*, 1976; p.177.
255. V. Travagli, I. Zanardi, G. Valacchi, V. Bocci. Ozone and Ozonated Oils in Skin Diseases. A Review. 2010. <http://dx.doi.org/10.1155/2010/610418>
256. Valacchi G., Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: 11. Release of factors from human endothelial cells. *Mediators Inflamm*. 2000; 9(6): 271–276.
257. Valacchi, G., Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: 10. Release of factors from ozonated human platelets. *Mediat. Inflamm*. 1999, 8: 205-209.
258. Van de Leur JJPM. Dofferhoff ASM. van Turnhout JM. Volliird EJ, Clasener HAL. Colonization of oropharynx with staphylococci after penicillin in neutropenic patients. *Lancet* 1992, 340: 861-862.
259. Van Steenberghe, T. M. J., A. J. Van Winkelhoff, J. de Graaff. 1991. Black-pigmented oral anaerobic rods: Classification and role in periodontal disease, In S. Hamada, S. C. Holt, and J. R. McGhee (ed.), *Periodontal disease: Pathogens & host immune responses*. Quintessence Publisher Co., Tokyo. 1991. p. 41–52.
260. Vaughn, J. M., Chen Y. S., Novotny J. F., Strout D. Effects of ozone treatment on the infectivity of hepatitis A virus. [Can J Microbiol](#). 1990 Aug;36(8):557-60.
261. Viebahn, R., Steiner I. The Biochemical Aspects of Central Metabolic Parameters in Ozone-OxygenTherapy. *Proceedings of the Ninth Ozone World Congress*. 1989, vol. 3: 88.

262. Viebahn-Hansler R. Ozone therapy-the underlying therapeutical concept and models of efficacy. *Erfahrungs Heilkunde*. 1991, p. 4-40.
263. Vouldoukis I, Conti M, Krauss P, et al. Supplementation with gliadin-combined plant superoxide dismutase extract promotes antioxidant defences and protects against oxidative stress. *Phytother Res*. 2004 Dec;18(12):957-62.
264. Wagner S. J. et al. Virucidal levels of ozone induce hemolysis and hemoglobin degradation. *Transfusion*. 1991 Oct;31(8):748-51.
265. Washüttl J., Viebahn, R., Steiner I. Immunological Examinations in Patients with Chronic Conditions under Administration of Ozone Oxygen Mixtures. *Ozone SciEng*. 1989, 11. p. 411-417.
266. Weidmann B., Sahrman P., Bindl A., Roos M., Schmidlin P. R. Depth determination of artificial periodontal pockets using cone-beam tomography and radio-opaque material: an in vitro feasibility study. *Swiss Dent J*. 2014;124(4):406-15.
267. Wells K. H., Latino J., Gavalchin J., Poiesz B. J. Inactivation of human immunodeficiency virus type 1 by ozone in vitro. *Blood*. 1991 Oct 1;78(7):1882-90.
268. WFOT Review on Evidence Based Ozone Therapy. 2015.
<http://www.wfoot.org/wp-content/uploads/2016/01/WFOT-OZONE-2015-ENG.pdf>
269. Wolff H. H. Das medizinische Ozon. Theoretische Grundlagen, Therapeutische Anwendungen, Verlag für Medizin Dr. E. Fischer, Heidelberg. 1979.
270. Yanagishita M. Function of proteoglycans in the extracellular matrix. *Acta Pathol Jpn*. 1993 Jun;43(6):283-93.
271. Zanardi I., Travagli V., Gabbrielli, A., Chiasserine L., Bocci V. Lipids. 2008, p. 43- 877.
272. Zawadzka-Bartczak E., Activities of red blood cell anti-oxidative enzymes (SOD, GPx) and total anti-oxidative capacity of serum (TAS) in men with coronary atherosclerosis and in healthy pilots. *Med Sci Monit*. 2005 Sep;11(9):CR440-4. Epub 2005 Aug 26.
273. Zullyt B. Zamora, S. Menéndez, M. Bette, R. Mutters, S. Hoffmann, S. Schulz. Ozone Prophylactic Effect and Antibiotics as a Modulator of Inflammatory Septic process in Rats. 2014. <http://medicalozone.info/wp-content/uploads/Ozone-Therapy-Sepsis.pdf>

ANEXE

Anexa 1. Formular de stabilire a cantității relative de germeni identificați în probă.


GRANDISMEDOZON
STOMATOLOGIE

Identificarea germenilor asociați parodontitei

prin metoda reacției de polimerizare în lanț (PCR) de tip multiplex cu detecție colorimetrică;

testul micro-IDent®plus11, Germania20.....

Numele, prenumele

Sexul M/F vârsta

Interpretarea rezultatelor

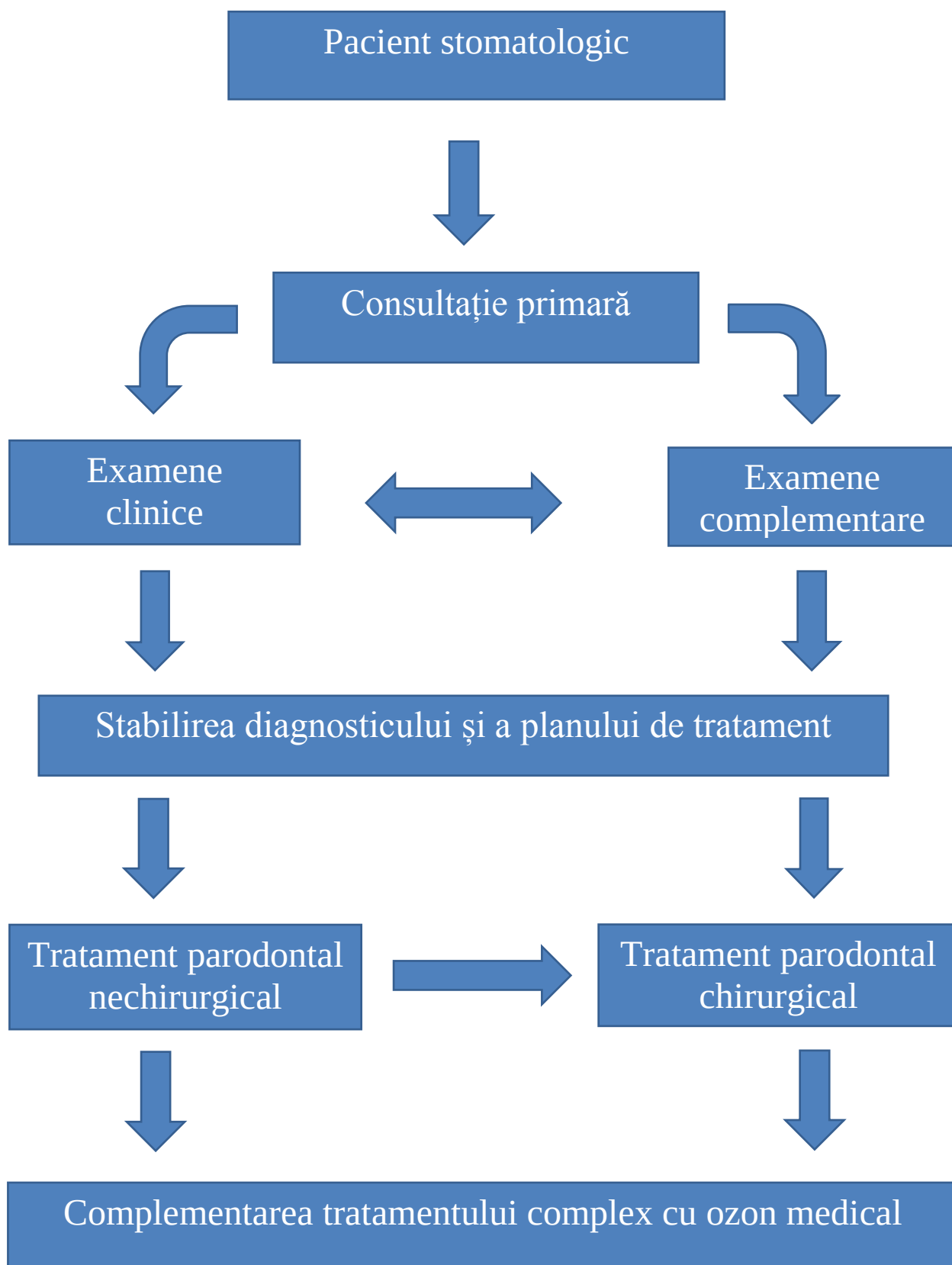
În cazul detecțiilor ADN pozitive, pentru fiecare bacterie patogenă rezultatul va fi raportat astfel: "slab pozitiv (33%)", "pozitiv (66%)", "intens pozitiv (99%)". Aceste moduri de comunicare se corelează cu cantitatea de germeni identificați în probă.

Denumire patogen parodontal	Detecție AND pana la tratament	Detecție AND dupa tratament	Detecție AND dupa tratament -1l	Detecție AND dupa tratament- 3l
Actinobacillus actinomycetemcomitans				
Porphyromonas gingivalis				
Prevotella intermedia				
Bacteroides forsythus				
Treponema denticola				
Peptostreptococcus micros				
Fusobacterium nucleatum/periodonticum				
Eikenella corrodens				
Campylobacter rectus				
Eubacterium nodatum				
Capnocytophaga spp				
Cantitatea totala de germeni în (%)				

Anexa 2. Formularul de analiză al LDF - graelor.

G R A N D I S M E D O Z O N				S T O M A T O L O G I E			
Evaluarea microcirculației sanguine capilare în țesutul parodontal							
prin metoda fluxmetriei Laser-Doppler (LDF), utilizând analizatorul laser LAKK-02, SPE «LAZMA», Russia							
.....20.....							
Numele, prenumele							
Sexul M/F vârsta							
Valorile medii ale perfuziei sanguine tisulare.							
(M) - media aritmetică a nivelului microcirculație							
(σ) - deviația standard al amplitudinii de oscilație al fluxului sanguine							
(Kv) - coeficient de variație							
Modificările ritmice ale fluxului							
ALF - amplitudinea maximă a oscilațiilor fluxului de sange in banda de frecvență joasă							
ACF - amplitudinea maximă a oscilațiilor pulsatorii al fluxului de sange							
AHF - amplitudinea maximă a oscilațiilor de frecvență înaltă al fluxului de sange							
Indicele eficacității microcirculației – IEM							
Până la tratament							
Indice	Maxila L.D.	Maxila F.	Maxila L.S.	Mand.L.D.	Mand F.	Mand L.S.	Val.Medii
M							
σ							
Kv							
ALF							
ACF							
AHF							
IEM							

Anexa 3. Algoritmul de tratament complex al PMC grave.



Anexa 4. Brevete de invenție

	
MD 2327 G2 2003.12.31	
REPUBLICA MOLDOVA	
	
(19) Agenția de Stat pentru Protecția Proprietății Industriale	(11) 2327 ⁽¹³⁾ G2 (51) Int. Cl. ⁷ : A 61 K 7/20; A 61 B 17/24
(12) BREVET DE INVENȚIE	
(21) Nr. depozit: a 2003 0168 (22) Data depozit: 2003.07.11	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2003.12.31, BOPI nr. 12/2003
(71) Solicitanți: PÎRGARI Andrei, MD; PÎRGARI Boris, MD (72) Inventatori: PÎRGARI Andrei, MD; PÎRGARI Boris, MD (73) Titulari: PÎRGARI Andrei, MD; PÎRGARI Boris, MD	
(54) Metodă de tratament al afecțiunilor parodonțiului	
(57) Rezumat:	
1 Invenția se referă la medicină, în special la stomatologie. Esența invenției constă în aceea că se efectuează injectarea locală în mucoasă în regiunile afectate cu amestec gazos de O ₂ și O ₃ în doză de 0,5...1,0 ml, care conține 8000...10000 μg/L de ozon. Apoi după fiecare ședință se fac irigații gingivale cu soluție apoasă ozonată, care conține 6000...8000 μg/L de	2 ozon, după care se efectuează aplicații locale cu ulei ozonat în concentrație de 5000...6000 μg/L. Cura de tratament este de 3...4 ședințe cu un interval de 1...2 zile. Revendicări: 1 10



MD 2551 G2 2004.09.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 2551⁽¹³⁾ G2
(51) Int. Cl.⁷: A 61 K 7/20;
A 61 P 31/10

(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2003 0280 (22) Data depozit: 2003.12.03	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2004.09.30, BOPI nr. 9/2004
(71) Solicitanți: PÎRGARI Andrei, MD; PÎRGARI Boris, MD (72) Inventatori: PÎRGARI Andrei, MD; PÎRGARI Boris, MD (73) Titulari: PÎRGARI Andrei, MD; PÎRGARI Boris, MD	

(54) Utilizarea soluțiilor ozonate acceptabile farmaceutic pentru tratamentul
micozelor cavității bucale

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la medicină, în special la sto-
matologie.
Esența invenției constă în utilizarea soluțiilor

2
acceptabile farmaceutic, ozonate pentru tratamentul
micozelor cavității bucale.
Revendicări: 1



MD 1019 Y 2016.03.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1019** (13) **Y**
(51) Int.Cl: *A61K 36/55* (2006.01)
A61K 47/08 (2006.01)
A61K 36/185 (2006.01)
A61P 1/02 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ

În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: s 2015 0091 (22) Data depozit: 2015.07.08	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2016.03.31, BOP1 nr. 3/2016
(71) Solicitant: PÎRGARI Andrei, MD (72) Inventator: PÎRGARI Andrei, MD (73) Titular: PÎRGARI Andrei, MD	

MD 1019 Y 2016.03.31

(54) Metodă de tratament al afecțiunilor inflamator-distructive ale parodonțiului

(57) Rezumat:

I
Invenția se referă la medicină, în special la stomatologie, și poate fi folosită pentru tratamentul diverselor afecțiuni inflamator-distructive ale parodonțiului.

Esența invenției constă în aceea că pe arcadele dentare se aplică niște gutiere dentare prefabricate cu un amestec medicamentos, timp de o oră pe zi sau cu o seringă se introduce în punga parodontală amestecul

2
medicamentos o dată pe zi, timp de 5...8 zile, iar amestecul menționat include ulei din semințe de in 30...60%, și ulei din semințe de cânepă 40...70%, și în prealabil se barbotează cu un amestec de ozon și oxigen, care conține 40000 µg/L de ozon, cu un debit de 1 L/min, timp de 12...24 ore.

Revendicări: 1



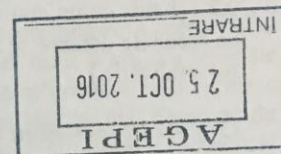
DIRECȚIA BREVETE



PATENTS DEPARTMENT

nr. 1 0808
din 2016 09. 16.

PÎRGARI Andrei,
str. Vlaicu Pârcălab nr. 15
MD-2009, Chișinău, Republica Moldova

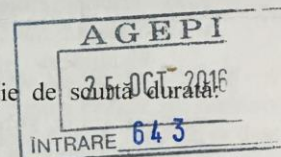


HOTĂRÂRE

nr.8500 din 2016-09-15

În urma examinării dosarului cererii de brevet de invenție de scurtă durată

- (21) nr. depozit: s 2016 0065
(22) data depozit: 2016.05.18
(54) titlul: **Metodă de tratament al formei grave de parodontită cronică marginală**



și în temeiul art. 52(3) din Legea nr. 50/2008 privind protecția invențiilor, Direcția Brevete, Secția Examinare

HOTĂRĂȘTE

Acordarea brevetului de invenție de scurtă durată conținând următoarele date:

- (13) Y
(51) **Int.Cl:** *A61C 17/00* (2006.01)
A61K 47/08 (2006.01)

- (21) s 2016 0065
(22) 2016.05.18

- (71)(72)(73) PÎRGARI Andrei, MD
(54) **Metodă de tratament al formei grave de parodontită cronică marginală**

Certificate de inovator





Republica Moldova
Ministerul Sănătății

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5509

Pentru inovația cu titlul

**Metoda de înregistrare a LDF-gramelor
în cavitatea bucală**

Inovația a fost înregistrată pe data de **18.05.2016**
la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie
"Nicolae Testemițanu"

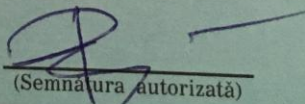
Se recunoaște calitatea de autor(i)

Andrei PÎRGARI



Data eliberării

02.06.2016


(Semnătura autorizată)



Anexa 5. Acte de implementare în practică

S.R.L. "GrandisMedozon"
Str. Vlaicu Pîrcălab 15, Chișinău 2009
Republica Moldova
Tel.022 229 952
e-mail: info@grandismedozon.com

Act nr. 3

despre implementarea rezultatelor cercetărilor științifico-practice ale doctorandului
Catedrei de odontologie, parodontologie și patologie orală, USMF „Nicolae Testemițanu”

Andrei Pîrgari

1. **Denumirea propunerii de implementare:** optimizarea eficacității terapeutice de tratament complex nechirurgical a pacienților cu parodontită marginală cronică forma gravă prin aplicarea ozonului medical.
2. **De către cine și când a fost propusă:** Andrei Pîrgari 24.03.2011
Unde a fost implementat: S.R.L. "GrandisMedozon"
3. **Data implementării:** 15.12.2011
4. **Numărul investigațiilor:** 35 de pacienți cu parodontită marginală cronică, fiind aplicat tratament parodontal complex nechirurgical complementat cu ozon medical.
5. **Rezultatele folosirii metodei:** aplicarea ozonului medical a condus la o micșorare considerabilă a contaminării bacteriene în pungile parodontale și la o diminuare rapidă a fenomenelor inflamatorii în țesutul parodontal, stimulând astfel procesele reparatorii și reducând timpul de vindecare.
6. **Eficacitatea implementării:** metoda terapeutică orientată spre înlăturarea factorilor etiologici cât și stimularea proceselor reparatorii și de vindecare, a permis obținerea unei eficiențe de 36,2 - 55,42 %, a complementării tratamentului parodontal clasic nechirurgical cu ozon medical, aplicat sistemic și topic.
7. **Este recomandată:** pacienților cu diverse forme de parodontită marginală cronică.

Administrator, medic-șef
15.12.2011



Andrei Pîrgari

**I.M.S.P. Clinica Universitară Stomatologică
a USMF Nicolae Testemițanu**

str. Toma Ciorba, 42
MD2004 Chisinau,
Mun.Chisinau, Moldova
Tel. 022 205 784
<http://www.mednet.md>

Act nr. 4

despre implementarea rezultatelor cercetărilor științifico-practice ale doctorandului
Catedrei de odontologie, parodontologie și patologie orală, USMF „Nicolae Testemițanu”

Andrei Pîrgari

1. **Denumirea propunerii de implementare:** optimizarea eficacității terapeutice de tratament complex nechirurgical a pacienților cu parodontită marginală cronică forma gravă prin aplicarea ozonului medical.
2. **De către cine și când a fost propusă:** Andrei Pîrgari 24.03.2011
Unde a fost implementat: I.M.S.P. Clinica Universitară Stomatologică a USMF N.Testemițanu
3. **Data implementării:** 26.10.2015
4. **Numărul investigațiilor:** 42 de pacienți cu parodontită marginală cronică, fiind aplicat tratament parodontal complex nechirurgical complementat cu ozon medical.
5. **Rezultatele folosirii metodei:** aplicarea ozonului medical a condus la o micșorare considerabilă a contaminării bacteriene în pungile parodontale și la o diminuare rapidă a fenomenelor inflamatorii în țesutul parodontal, stimulând astfel procesele reparatorii și reducând timpul de vindecare.
6. **Eficacitatea implementării:** metoda terapeutică orientată spre înlăturarea factorilor etiologici cât și stimularea proceselor reparatorii și de vindecare, a permis obținerea unei eficiențe de 36,2% - 55,42%, a complementării tratamentului parodontal clasic nechirurgical cu ozon medical, aplicat sistemic și topic.
7. **Este recomandată:** pacienților cu diverse forme de parodontită marginală cronică.

Director
26.10.2015



Valeriu Obada

I.M.S.P. Policlinica Stomatologică Republicană

Str. Vlaicu Pîrcălab 17, mun. Chișinău

MD-2012

Tel. 022 222 213, 022 224 097

<http://www.stomatologiamd.com>

repubdentclinic@ms.md

Act nr.5

despre implementarea rezultatelor cercetărilor științifico-practice ale doctorandului
Catedrei de odontologie, parodontologie și patologie orală, USMF „Nicolae Testemițanu”

Andrei Pîrgari

1. **Denumirea propunerii de implementare:** optimizarea eficacității terapeutice de tratament complex nechirurgical a pacienților cu parodontită marginală cronică forma gravă prin aplicarea ozonului medical.
2. **De către cine și când a fost propusă:** Andrei Pîrgari 24.03.2011
Unde a fost implementat: I.M.S.P. Policlinica Stomatologică Republicană
3. **Data implementării:** 06.02.2016
4. **Numărul investigațiilor:** 24 de pacienți cu parodontită marginală cronică, fiind aplicat tratament parodontal complex nechirurgical complementat cu ozon medical.
5. **Rezultatele folosirii metodei:** aplicarea ozonului medical a condus la o micșorare considerabilă a contaminării bacteriene în pungile parodontale și la o diminuarea rapidă a fenomenelor inflamatorii în țesutul parodontal, stimulând astfel procesele reparatorii și reducând timpul de vindecare.
6. **Eficacitatea implementării:** metoda terapeutică orientată spre înlăturarea factorilor etiologici cât și stimularea proceselor reparatorii și de vindecare, a permis obținerea unei eficiențe de 36,2% - 55,42%, a complementării tratamentului parodontal clasic nechirurgical cu ozon medical, aplicat sistemic și topic.
7. **Este recomandată:** pacienților cu diverse forme de parodontită marginală cronică.

Director
06.02.2016



Constantin Ciobanu

DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

Subsemnatul, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Pîrgari Andrei

25.01.2017.

CV-ul AUTORULUI

Pîrgari Andrei

Anul nașterii – 21.09.1974

Str. Vlaicu Pîrcălab 15, Chișinău 2009,

Republica Moldova

GSM.: +373 69185949

andreipirgari@hotmail.com



I. Studii

2002 - 2005 – Doctoratul, Catedra de Stomatologie Terapeutică a FPM a USMF „Nicolae Testemițanu”, R. Moldova;

1999 - 2002 – Studii post-universitare prin rezidențiat la specialitatea Stomatologie Generală în cadrul USMF „Nicolae Testemițanu”, R. Moldova;

1993 - 1999 – UMF „T. Gr. Popa”, Iași - Facultatea de Stomatologie, România;

II. Activitatea profesională

2003 – prezent – medic șef, Clinica poli-funcțională ”GrandisMedozon” S.R.L.”, Chișinău;

1999 - 2002 – medic rezident, Catedra de Stomatologie Terapeutică, Clinica Universitară Stomatologică din str.Toma Ciorbă;

III. Stagii

2016 – Curs de specializare Colohidroterapie și Ozonoterapie, Brașov, România;

2015 – Curs de specializare PlasmoliftigTM în Stomatologie, București, România;

2015 – Curs Postuniversitar Internațional de Perfecționare în Ozonoterapie, Facultatea de Medicină, Universitatea Titu Maiorescu, București, România;

2014 – Curs de instruire în implantologie, Centrul de Implantologie, Spitalul Na Homolce, Praga, Cehia;

2012 – Curs avansat de specializare în ozonoterapie, Academia Medicală de

Studii post universitare în parteneriat cu Asociația de Ozonoterapie și Institutul de Ozonoterapie și Echipament Medical, Harkov, Ucraina;

2009 - Curs de instruire în implantologie, Centrul de Implantologie, Spitalul Na Homolce, Praga, Cehia;

2008 – Curs de specializare în protezarea dinților, Facultatea Perfecționare a Medicilor, USMF "Nicolae Testemițanu", R. Moldova;

2008 - Curs de instruire în implantologie, Centrul de Implantologie, Spitalul Na Homolce, Praga, Cehia;

2008 – Curs de calificare în implantologie dentară, Departamentul de Stomatologie, Prima Facultate de Medicină, Universitatea Karlova, Praga, Cehia;

2007 – Curs de specializare în carii și complicații, distrofii dentare, Facultatea Perfecționare a Medicilor, USMF "Nicolae Testemițanu", R. Moldova;

2003 – Curs de specializare în ozonoterapie, Asociația de Ozonoterapie și Institutul de Ozonoterapie și Echipament Medical, Harkov, Ucraina;

2002 – Curs clinic de specializare IVOCLAR/VIVADENT, Sistemul de protezare din ceramică fără metal IPS / EMPRESS 2 -Ivoclar Vivadent AG, Germania;

2000 - Curs de chirurgie clinică și protetică, Lasak Implantologic Impladent System, Praga, Cehia;

2000 – Curs internațional de implantologie orală, Facultatea Perfecționare a Medicilor, USMF "Nicolae Testemițanu", R. Moldova;

1999 – Curs internațional de parodontologie, Facultatea Perfecționare a Medicilor, USMF "Nicolae Testemițanu", R. Moldova.

IV. Domenii de activitate științifică: Stomatologie și Ozonoterapie

2016 - Congresul Național cu participare internațională organizat de Asociația Stomatologilor din Republica Moldova USMF "Nicolae Testemițanu", tema: "Ozonul medical – o nouă abordare în tratamentul complex al parodontitelor marginale cronice";

2016 - Congresul Național de Ozonoterapie, organizat de către Societatea Științifică Română de Oxigen Ozonoterapie, Universitatea Titu Maiorescu, București, România, tema: "Efectul oxigen-ozon terapiei în tratamentul complex al parodontitelor marginale cronice profunde";

2014 - Conferința Națională XX "Prevenirea afecțiunilor stomatologice", UMF „T. Gr. Popa”, Facultatea de Medicină Dentară, Iași, România;

2006 - Al-3 lea Simpozion, Colegiul Medicilor Dentiști, Iași, România;
2006 - Aprobarea tezei de doctor în medicină ”Efectul oxigenului activ în forma sa alotropă în tratamentul complex al parodontitelor marginale”;

V. Brevete de invenție

2016 – Metodă de tratament a formei grave de parodontită cronică marginală. MD 1096 Y, BOPI nr. 11/2016.
2016 – Metodă de tratament a afecțiunilor inflamator-distructive ale parodonțiului. MD 1019 Y, BOPI nr. 3/2016, p. 34-35.
2004 – Utilizarea soluțiilor ozonate acceptabile farmaceutic pentru tratamentul micozelor cavității bucale. MD 2551 G2, BOPI nr. 9/2004, p. 33.
2003 – Metodă de tratament al afecțiunilor parodonțiului. MD 2327 G2, BOPI nr. 12/2003, p. 23-24.

VI. Certificate de inovator

2016 - Dispozitiv de aplicare a sondei laser - Doppler, în cavitatea bucală, pentru înregistrarea LDF-gramelor. MD nr. 5507 18.05.2016.
2016 - Metodă de înregistrare a LDF-gramelor în cavitatea bucală. MD nr. 5509 18.05.2016.

VII. Lucrări științifice publicate:

Autor a 6 lucrări științifice în reviste naționale și internaționale la subiectul tezei de doctor în științe medicale.

VIII. Calitatea de membru în asociații de profil:

2015 – Membru al Societății Științifice Române de Oxigen Ozonoterapie, București, România.
2014 – Membru al Colegiului Medicilor Dentiști, Iași, România;
2005 – Membru al Asociației Stomatologilor din Republica Moldova;
2002 - Membru fondator al Asociației de Ozonoterapie din Republica Moldova;

IX. Limbi

Română – limba maternă;
Rusă – fluent;
Engleză – fluent.