

# Učinak hijaluronske kiseline na cijeljenje rane

---

Čular, Helena

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:670550>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial 4.0 International](#)/[Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-22**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





Sveučilište u Zagrebu  
Stomatološki fakultet

Helena Čular

# **UČINAK HIJALURONSKE KISELINE NA CIJELJENJE RANE**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2023.

Rad je ostvaren na Zavodu za parodontologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Ana Badovinac, dr. med. dent., Zavod za parodontologiju, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Lektor hrvatskog jezika: Jasmina Škoda Protulipac, prof.

Lektor engleskog jezika: Mislav Gleich, dipl. mag. ang.

Rad sadrži: 41 stranicu

Rad je vlastito autorsko djelo, koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora diplomskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija, odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

## **Zahvala**

Hvala mentorici, izv. prof. dr. sc. Ani Badovinac, na ljubaznosti, brzim odgovorima i savjetima tijekom izrade diplomskog rada.

Hvala kolegama i prijateljima koje sam stekla tijekom studiranja i koji su mi veoma uljepšali studentske dane.

Posebno hvala obitelji i bližnjima što su me uvijek podržavali i ohrabivali.

## UČINAK HIJALURONSKE KISELINE NA CIJELJENJE RANE

### Sažetak

Niz događanja uključen je u složeni biološki proces cijeljenja rana, čiji je cilj obnova oštećenog tkiva. Svi stadiji reparacije tkiva, uključujući migraciju stanica, upalu, angiogenezu, remodelaciju i stvaranje ožiljka, kontrolirani su komponentama izvanstaničnog matriksa. Prema istraživanjima, osim što stvaraju mikrookruženje rane, te komponente također sudjeluju u nizu signalnih putova koji se aktiviraju tijekom procesa cijeljenja. Hijaluronska kiselina sastavna je molekula izvanstaničnog matriksa vezivnog tkiva koja posjeduje izrazitu biokompatibilnost, neantigenost i neimunogenost. Zbog toga se smatra sigurnim terapijskim sredstvom u brojnim medicinskim područjima. Ovisno o duljini lanca, razlikuje se hijaluronska kiselina visoke molekularne težine (HMWHA) i niske molekularne težine (LMWHA). HMWHA djeluje antiangiogeno i imunosupresivno, dok LMWHA inducira upalu i angiogenezu. Osim navedenog, istraživanja su pokazala da hijaluronska kiselina posjeduje i bakteriostatsko, fungistatsko, antiedematozno te osteoinduktivno djelovanje. Sudjeluje u regulaciji svih faza cijeljenja – upalnoj, proliferacijskoj i maturacijskoj. Svoje djelovanje ostvaruje putem CD44 receptora. Ima velik potencijal za primjenu u parodontologiji zahvaljujući brojnim istraživanjima koja su dokazala njezin pozitivan utjecaj na poboljšanje ishoda i nekirurške i kirurške terapije parodontnih bolesti. Unatoč tomu, postoji potreba za provođenjem daljnjih bolje dizajniranih studija kako bi se dobili jasniji podaci o adekvatnom protokolu i najefikasnijoj formulaciji hijaluronske kiseline za kliničku primjenu.

Ključne riječi: cijeljenje; hijaluronska kiselina; CD44 receptor; parodontologija

## **THE EFFECT OF HYALURONIC ACID ON WOUND HEALING**

### **Summary**

A series of events are involved in the complex biological process of wound healing, the goal of which is the restoration of damaged tissue. All stages of tissue repair, including cell migration, inflammation, angiogenesis, remodeling, and scar formation, are controlled by extracellular matrix components. According to research, these components not only create the wound microenvironment, but also participate in a series of signaling pathways that are activated during the healing process. Hyaluronic acid is a constituent molecule of the extracellular matrix of the connective tissue, and has marked biocompatibility, non-antigenicity and non-immunogenicity. This is why it is considered a safe therapeutic agent in many therapeutic fields. Depending on the length of the chain, there is a difference between high molecular weight hyaluronic acid (HMWHA) and low molecular weight hyaluronic acid (LMWHA). HMWHA has anti-angiogenic and immunosuppressive effects, while LMWHA induces inflammation and angiogenesis. In addition to the above, clinical research has shown that hyaluronic acid also has bacteriostatic, fungistatic, anti-edematous and osteoinductive effects. It contributes to the regulation of all the healing phases—inflammatory, proliferation and maturation. It produces its effect using the CD44 receptor. According to numerous studies that have proven its positive impact on improving the outcome of both non-surgical and surgical therapy of periodontal diseases, it has great potential for application in periodontology. Nevertheless, further, better designed studies are needed to obtain clearer data on the adequate protocol and the most effective formulation of hyaluronic acid for clinical use.

Key words: healing; hyaluronic acid; CD44; periodontology

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. UČINAK HIJALURONSKE KISELINE NA CIJELJENJE RANE.....	3
2.1. Osnovne značajke hijaluronske kiseline .....	4
2.1.1. Struktura hijaluronske kiseline.....	4
2.1.2. Hijaluronska kiselina u organizmu .....	5
2.1.3. Modifikacija hijaluronske kiseline .....	6
2.1.4. Svojstva hijaluronske kiseline.....	6
2.1.5. Primjena hijaluronske kiseline .....	7
2.2. Cijeljenje rane .....	8
2.2.1. Faze cijeljenja rane .....	8
2.2.1.1. Upalna faza.....	8
2.2.1.2. Proliferacijska faza.....	9
2.2.1.3. Maturacijska faza (remodeliranje) .....	9
2.2.2. Vrste cijeljenja rane.....	10
2.2.3. Čimbenici koji utječu na cijeljenje rane .....	11
2.3. Učinak hijaluronske kiseline na pojedine faze cijeljenja rane .....	12
2.3.1. Hijaluronska kiselina u upalnoj fazi.....	14
2.3.2. Hijaluronska kiselina u proliferativnoj fazi.....	15
2.3.3. Hijaluronska kiselina u fazi remodeliranja .....	17
2.4. Primjena hijaluronske kiseline u parodontologiji .....	18
2.4.1. Nekirurška parodontna terapija.....	19
2.4.1.1. Liječenje gingivitisa.....	20
2.4.1.2. Liječenje kroničnog parodontitisa .....	21
2.4.1.3. Rekonstrukcija interdentalne papile.....	22

2.4.2. Kirurška parodontna terapija .....	23
3. RASPRAVA.....	26
4. ZAKLJUČAK.....	31
5. LITERATURA.....	33
6. ŽIVOTOPIS .....	40



## **Popis skraćenica**

BOP (engl. *bleeding on probing*) – krvarenje pri sondiranju

CAL (engl. *clinical attachment loss*) – gubitak pričvrška

CD44 - engl. *Cluster Determinant 44*

Da - Dalton

EGF (engl. *epidermal growth factor*) – epidermalni čimbenik rasta

FGF (engl. *fibroblast growth factor*) – čimbenik rasta fibroblasta

BGI (engl. *gingival bleeding indeks*) – indeks krvarenja gingive

GI (engl. *gingival index*) – gingivni indeks

HA (engl. *hyaluronic acid*) – hijaluronska kiselina

IL-1 – interleukin-1

IL-6 – interleukin-6

HMWHA (engl. *high molecular weight hyaluronic acid*) – hijaluronska kiselina visoke molekularne težine

ICAM (engl. *intercellular adhesion molecule*) – međustanična adhezijska molekula

LMWHA (engl. *low molecular weight hyaluronic acid*) – hijaluronska kiselina niske molekularne težine

MMPs (engl. *matrix metalloproteinases*) – matriksne metaloproteinaze

PBI (engl. *papila bleeding index*) – indeks krvareće papile

PD (engl. *probing depth*) – dubina sondiranja

PPD (engl. *probing pocket depth*) – sondirana dubina džepa

PI (engl. *plaque index*) – indeks plaka

PDGF (engl. *platelet-derived growth factor*) – trombocitni čimbenik rasta

RHAMM (engl. *receptor for hyaluronan-mediated motility*) – receptor za pokretljivost posredovanu hijaluronom

SRP (engl. *scaling and root planing*) – struganje i poliranje korijena

TGF- $\beta$  (engl. *transforming growth factor- $\beta$* ) – transformirajući čimbenik rasta- $\beta$

TNF- $\alpha$  (engl. *tumor necrosis factor - $\alpha$* ) – čimbenik tumorske nekroze- $\alpha$

VEGF (engl. *vascular endothelial growth factor*) – vaskularni endotelni čimbenik rasta

## **1. UVOD**

Cijeljenje rane proces je koji je do danas detaljno proučavan te je pod utjecajem raznih čimbenika. Upalna, proliferativna i maturacijska faza (faza remodeliranja) tri su ključne faze cijeljenja rane. Svaka od njih sastoji se od preklapajućih procesa koordinirane stanične aktivnosti (1). Ti procesi kontrolirani su citokinima koji omogućuju stanicama ključnima za cijeljenje da proizvedu proteine i polimere nužne za rekonstrukciju rane (2). Brojni čimbenici imaju utjecaj na cijeljenje, a jedan od njih je hijaluronska kiselina (HA), glikozaminoglikan koji se nalazi široko rasprostranjen u ljudskim tkivima i tkivnim tekućinama. Njezina funkcija u cijeljenju varira ovisno o veličini same molekule (3). Otkrivena je 1934.godine izolacijom kemijske supstancije iz staklovine kravljeg oka (4). Upotrebljava se kako bi se dobile biološke skele za upotrebu u zacjeljivanju rana. Te skele obično sadrže proteine poput fibronektina koji se vežu uz hijaluronsku kiselinu čija viskozno elastična svojstva potiču migraciju stanica u područje rane. Hijaluronska kiselina naročito značajnu ulogu ima u upalnoj i granulacijskoj fazi cijeljenja. Pomaže u održavanju vlažnog okruženja rane gdje dolazi do migracije stanica (primjerice, fibroblasta i endotelnih stanica). Time također smanjuje ukupno opterećenje tog područja bakterijama (5). S obzirom na navedena svojstva HA, sve se više istražuje i primjenjuje kao samostalna ili dodatna terapija različitih parodontnih slučajeva.

Svrha je ovog rada opisati proces cijeljenja rane, karakteristike hijaluronske kiseline te istaknuti njezinu ulogu u procesu cijeljenja, kao i primjenu u parodontologiji.

## **2. UČINAK HIJALURONSKE KISELINE NA CIJELJENJE RANE**

## 2.1. Osnovne značajke hijaluronske kiseline

### 2.1.1. Struktura hijaluronske kiseline

Ponavljajuće jedinice N-acetil glukozamin disaharida i d-glukuronske kiseline formiraju hijaluronsku kiselinu, polisaharid koji pripada skupini glikozaminoglikana (4). Vežanjem disaharida stvara se lančana struktura s varijacijama u relativnoj molekularnoj masi od 10 pa do 10 000 Da te s dužinom koja može doseći 10 nm (5). Takva raznolikost u strukturi utječe na penetraciju HA u kožu i njezinu biološku aktivnost (6).

Glikozaminoglikani su skupina nerazgranatih jednolančanih polimera sastavljeni od disaharidnih jedinica. Disaharidi se sastoje od N-acetilheksozamina i heksoza. Svi glikozaminoglikani posjeduju neke zajedničke karakteristike: sadrže sulfatnu skupinu, polisaharidni lanci relativno su im kratki (< 50 kDa) te se sintetiziraju u Golgijevu tijelu i endoplazmatskom retikularnom tkivu. Različite vrste sulfatnih glikozaminoglikana mogu biti povezane zajedničkom peptidnom jezgrom, što uz prateće varijacije u peptidima i drugim šećerima omogućuje veliku raznolikost u strukturi proteoglikana. Upravo zato ove molekule posjeduju veliki potencijal za interakcije s raznovrsnim stanicama i komponentama ekstracelularnog matriksa (7).

Za razliku od ostalih glikozaminoglikana, hijaluronska kiselina jedini je polimer koji nije sulfatiran, što omogućuje molekuli da bude kruta i ravna (8). Ne sadrži peptide u primarnoj strukturi jer se ne sintetizira u Golgijevu tijelu, nego u staničnoj membrani. Njezina molekularna težina puno je veća, nerijetko doseže milijune (7). Primarna struktura polisaharida sastoji se od nerazgranatog linearnog lanca s monosaharidima povezanim međusobno putem  $\beta$ -1, 4 i  $\beta$ -1, 3 glikozidnih veza. Hidrofobna mjesta molekule nalaze se unutar njezine sekundarne strukture koja se sastoji od aksijalnih vodikovih atoma u oko osam različitih skupina ugljikovodika na izmjeničnim stranama molekule. Tercijarna struktura posjeduje intermolekularne vodikove veze. Zajedno, hidrofobne i vodikove veze, uz elektrostatsko odbijanje, omogućuju povezivanje više molekula što dovodi do stvaranja mreže molekula hijaluronske kiseline (matrice) (4).

### **2.1.2. Hijaluronska kiselina u organizmu**

Gotovo svi organi kralježnjaka u svojoj strukturi posjeduju hijaluronsku kiselinu, no najveći je udio sadržan u ekstracelularnom matriksu mekog vezivnog tkiva (4). Proizvodi se u staničnoj membrani svih sisavaca, vodozemaca i bakterija putem integralnih membranskih enzima nazvanih sintaze hijaluronske kiseline (HAS), koje imaju nekoliko izoformi ovisno o organizmu koji ih proizvodi. Kralježnjaci posjeduju tri tipa: HAS1, HAS2 i HAS3 (8). HAS1 i HAS2 odgovorni su za sintezu hijaluronske kiseline visoke molekularne mase (HMWHA) i umjereno su aktivni, dok HAS3 posjeduje najizraženiju aktivnost i stvara hijaluronsku kiselinu niske molekularne mase (LMWHA) (9).

Većina stanica ljudskog tijela, kao što su fibroblasti, hondrociti i osteoblasti, sintetizira hijaluronsku kiselinu u staničnoj membrani te ju direktno izlučuje u izvanstanični prostor (10). Brojni proteini nazvani hijaladherini specifično prepoznaju strukturu hijaluronske kiseline te ulaze u interakciju s njom. Putem tih interakcija hijaluronska kiselina veže se uz proteoglikane kako bi stabilizirala strukturu ekstracelularnog matriksa te uz površinu stanica utječući tako na njihovo funkcioniranje (11).

Hijaluronska kiselina obično se nalazi u obliku molekule visoke molekularne mase s najvećom koncentracijom u sinovijalnoj tekućini, pupkovini, hrskavicama, tkivu oka i kože, dok je najmanje ima u krvnom serumu (4, 11). Procijenjeno je da ukupna količina hijaluronske kiseline u ljudskoj koži doseže 5 g, što je otprilike trećina cjelokupne količine sadržane u tijelu (4). Osigurava glatkoću kože, a s obzirom na to da je zabilježeno da s godinama dolazi do smanjenja njezine proizvodnje, to rezultira dehidracijom i gubitkom elastičnosti tkiva, što doprinosi pojavi bora (8). Uloga hijaluronske kiseline u tijelu jest povezati ostale molekule ekstracelularnog matriksa, održati viskoznost i elastičnost vezivnog tkiva te kontrolirati hidrataciju i prijenos vode u tkivima. Sudionik je i brojnih bioloških procesa poput embrionalnog razvoja, diferencijacije i proliferacije stanica, cijeljenja rane i regeneracije (12).

Kod ljudi, poluživot hijaluronske kiseline u tkivima varira od otprilike jednog dana u kožnom sloju do čak 70 dana u staklastom tijelu oka (5). Veliki dio katabolizira se ili lokalno ili limfom, a ostatak ulazi u cirkulaciju s vremenom poluživota od dvije do pet minuta gdje je uglavnom uklanjaju endotelne stanice jetrenih sinusoida (7).

### **2.1.3. Modifikacija hijaluronske kiseline**

Hijaluronska kiselina i njezini derivati kao medicinski proizvodi u kliničkom radu upotrebljavaju se već više od tri desetljeća (13). Prepoznata je kao važna osnovna komponenta za stvaranje novih biomaterijala s primjenom u tkivnom inženjerstvu i regenerativnoj medicini (14).

Prirodni oblik biomaterijala unatoč svojim prednostima posjeduje neka svojstva koja ograničavaju njegovu upotrebu, kao što su topljivost u vodi, brza razgradnja i kratko vrijeme zadržavanja na mjestu primjene. Da bi se dobio materijal povoljnijih karakteristika, vrši se modifikacija njegove molekulske strukture (10). Hijaluronsku kiselinu moguće je modificirati na različite načine kako bi se promijenile karakteristike završnih produkata, uključujući modifikacije koje dovode do hidrofobnosti i promjena biološke aktivnosti. Kemijske modifikacije hijaluronske kiseline detaljno su istražene i usmjerene prema tri funkcionalne skupine: karboksilnoj skupini glukuronske kiseline, primarnoj i sekundarnoj hidroksilnoj skupini te N-acetilnoj skupini (nakon deamidacije) (15). Za postizanje veće stabilnosti hijaluronske kiseline najčešće se primjenjuje postupak umrežavanja (10). U odnosu na prirodnu hijaluronsku kiselinu, umrežena hijaluronska kiselina pokazuje poboljšana mehanička svojstva i manju osjetljivost na enzimsku razgradnju. U području tkivnog inženjerstva često se upotrebljavaju hidrogel, mikrogel i nanogel oblici hijaluronske kiseline. Hidrogel se sastoji od nasumično povezanih lanaca hijaluronske kiseline stvarajući mikrookoliš koji potiče staničnu proliferaciju, migraciju i sintezu izvanstaničnog matriksa, što rezultira rastom funkcionalnog tkiva (16).

### **2.1.4. Svojstva hijaluronske kiseline**

Hijaluronska kiselina izrazito je higroskopna molekula. Jedan gram HA na sebe može vezati šest litara vode. Navedeno je važno za održavanje volumena i rezilijencije tkiva, podmazivanje, apsorpciju stresa te hidrodinamiku.

Zahvaljujući svojoj viskoznosti i elastičnosti, može usporiti prodiranje virusa i bakterija. Također pokazuje protuupalna, bakteriostatska, fungistatska, antiedematozna, osteoinduktivna te proangiogenetska svojstva, čime značajno doprinosi cijeljenju rana (17).

Ovisno o duljini lanca, možemo razlikovati male, srednje i velike polimere hijaluronske kiseline. Prve dvije forme imaju proangiogena i antiapoptotska svojstva koja potiču

sintezu proteina toplinskog šoka i djeluju kao snažni imunostimulansi. Veliki polimeri većinom imaju imunosupresivnu i antiangiogenu funkciju (18).

Hijaluronska kiselina izrazito je biokompatibilna i neimunogena, zbog čega se sigurno može upotrijebiti u brojnim kliničkim postupcima (4).

#### **2.1.5. Primjena hijaluronske kiseline**

Zbog svojih karakterističnih svojstava koja omogućuju vezanje velikog broja molekula vode, hijaluronska kiselina često se upotrebljava u estetskoj medicini. Pospješuje hidrataciju tkiva i otpornost na mehanička oštećenja (19).

Zahvaljujući viskozno elastičnim svojstvima i navedenoj higroskopnosti, upotrebljava se u dermatologiji u obliku lokalne injekcije kao dermalni filer. Tako smanjuje izgubljeni volumen tkiva i reducira vidljivost bora (17).

Može se upotrijebiti i kao marker u dijagnostici određenih vrsta tumora i bolesti jetre (19).

Kao protuupalno sredstvo primjenjuje se u terapiji upalnih stanja kod dermatoloških, ortopedskih, oftalmoloških, a u novije vrijeme i stomatoloških pacijenata (17).



## **2.2. Cijeljenje rane**

### **2.2.1. Faze cijeljenja rane**

Neposredno nakon ozljede i oštećenja tkiva, započinje proces hemostaze. Ona se smatra nultom fazom cijeljenja rane. U područje oštećenih krvnih žila pojačano pristižu trombociti. Trombociti u kontaktu s kolagenom i drugim tvarima ekstracelularnog matriksa počinju oslobađati čimbenike zgrušavanja, koji u konačnici međusobnom agregacijom omogućuju stvaranje krvnog ugruška i zaustavljanje krvarenja. Krvni ugrušak sastoji se od eritrocita i trombocita umreženih s proteinima plazme. Takav kompleks u kasnijim fazama cijeljenja stabilizira fibrin, čime privremeno sljepljuje ranu. Osim što uspostavlja hemostazu, ugrušak djeluje i kao barijera prodoru mikroorganizama te kao pripremni matriks u koji će se postupno naseliti upalne stanice i čimbenici rasta neophodni za daljnji tijek reparacije tkiva (20). Treba napomenuti da iako nema značajnijih različitosti u fazama cijeljenja kože i sluznice, rane na oralnoj sluznici cijele brže i bolje u usporedbi s onima na koži (21).

#### **2.2.1.1. Upalna faza**

Upalna faza prva je faza cijeljenja rane, a prate ju tipični znakovi upale: toplina, crvenilo, bol, lokalizirani edem. Zapčinje nakon što se degranulacijom trombocita oslobode čimbenici rasta: epidermalni čimbenik rasta (EGF), transformirajući čimbenik rasta- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), trombocitni čimbenik rasta (PDGF). Oni potiču migraciju upalnih stanica u ozlijeđeno područje. PDGF u kombinaciji s proupalnim citokinima poput interleukina-1 (IL-1) potiče kretanje neutrofila prema mjestu ozljede. Neutrofili su među prvim stanicama koje stižu na mjesto oštećenja i imaju ključnu ulogu u uklanjanju mikroorganizama, stranih tijela i oštećenog tkiva. Njihova sposobnost fagocitoze igra važnu ulogu u normalnom procesu cijeljenja rana. Nakon njih, dolazi do priljeva monocita koje mobilizira TGF- $\beta$ . Monociti se zatim diferenciraju u makrofage koji fagocitiraju preostale mikroorganizme, propale stanice i ostatke tkiva. Makrofagi imaju i dodatnu ulogu otpuštanja proupalnih citokina kao na primjer IL-1 i interleukina-6 (IL-6) te čimbenika rasta fibroblasta (FGF). IL-1 pri kraju upalne faze potiče migraciju limfocita T koji su važni za daljnje faze cijeljenja. Pristigli limfociti T uzrokuju vazodilataciju, povećanu propusnost krvnih žila, a također utječu na funkciju fibroblasta te sintezu

kolagena, što je sve neophodno za daljnje faze cijeljenja (22). Važnost upalne faze prije svega je u sprečavanju infekcije, čišćenju ozlijeđenog tkiva te aktivaciji procesa koji vode do iduće, proliferacijske faze (23).

#### **2.2.1.2. Proliferacijska faza**

U drugoj fazi cijeljenja rane, proliferacijskoj fazi, važnu ulogu ponovno imaju čimbenici rasta. Trombociti, makrofagi i keratinociti počinju lučiti TGF- $\beta$ 1 koji je glavni u signalizaciji stimulacije fibroblasta i kontroli njihove funkcije. Fibroblasti počinju formirati ekstracelularni matriks nužan za rast stanica i stvaranje granulacijskog tkiva. Novostvoreno granulacijsko tkivo omogućuje urastanje novih krvnih žila i zatvaranje rane. Osim navedene funkcije, fibroblasti pojačano sintetiziraju i kolagen koji je veoma značajan za proces cijeljenja i nastanak ožiljkastog tkiva (23). Uz sintezu kolagena, ovu fazu još obilježavaju angiogeneza (urastanje novih krvnih žila) te reepitelizacija (zatvaranje rane novim epitelnim slojem). Svi ti procesi pod kontrolom su čimbenika rasta kao što je spomenuti TGF- $\beta$ , FGF, PDGF i vaskularni endotelni čimbenik rasta (VEGF) (24). Sve intenzivnija metabolička aktivnost u području rane uzrokuje povećanje potrebe za kisikom i hranjivim tvarima. To rezultira povećanom potrebom za opskrbom krvi u tom području. Kako bi se udovoljilo povećanim metaboličkim potrebama i kompenzirali hipoksični uvjeti uzrokovani nedovoljnom vaskularizacijom, nastaju snažni poticaji za angiogenezu (25). Nakon oštećenja tkiva, VEGF-A oslobađa se iz prisutnih trombocita. Makrofagi potaknuti prisutnošću čimbenika tumorske nekroze- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) također doprinose oslobađanju VEGF-A. Zanimljivo je da TNF- $\alpha$  dodatno stimulira lučenje VEGF-A iz keratinocita i fibroblasta, uz istodobno oslobađanje drugih citokina i čimbenika rasta koji potiču i pojačavaju izražaj VEGF-A. No najveći poticaj za njegovo lučenje je hipoksija prisutna u rani zbog metaboličkih poremećaja. Time započinje angiogeneza, čime se rana ponovno opskrbljuje kisikom i hranjivim tvarima te potiče njezino cijeljenje (26, 27).

#### **2.2.1.3. Maturacijska faza (remodeliranje)**

Faza maturacije završna je faza cijeljenja rane. U njoj dolazi do uspostave normalnog epitelnog sloja, formiranja novog tkiva i nastanka ožiljka. U ovoj fazi remodelira se ekstracelularni matriks. Kolagen tipa III nastao tijekom proliferacijske faze biva

zamijenjen kolagenom tipa I. Stvaraju se snopovi kolagena koji mogu vratiti i do oko 80 % izvorne čvrstoće tkiva. Elastična vlakna koja izlučuju fibroblasti u ovoj fazi preuzimaju svoju glavnu ulogu u vraćanju elastičnosti vezivnom sloju i stijenkama krvnih žila. Dolazi i do apoptoze raznovrsnih stanica pristiglih u područje rane tijekom prethodnog razdoblja cijeljenja. Također postupno dolazi i do prestanka rasta novih krvnih žila, što smanjuje protok krvi i metaboličku aktivnost u području ožiljka (28). Kao rezultat svega navedenog, dolazi do potpunog sazrijevanja ožiljka sa smanjenim brojem stanica i krvnih žila te visokom čvrstoćom koja ipak nikada neće doseći snagu neozlijeđenog tkiva (29).

### **2.2.2. Vrste cijeljenja rane**

Tri su kategorije cijeljenja rana – primarno, sekundarno i tercijarno.

Primarno cijeljenje rane postiže se kada je gubitak tkiva minimalan, a rubovi rane međusobno priljubljeni i spojeni kirurškim šavovima u položaj u kakvom su bili prije ozljede. Takve rane cijele čistim, urednim i minimalnim ožiljkom. Primarna zatvaranja rana, osim onih na glavi i vratu, mogu se sigurno izvesti najkasnije do 19 sati od ozljede. Rane na licu i vlasištu mogu se primarno zatvoriti kad god ih se primijeti, pod uvjetom da već nije došlo do infekcije. Uvijek je poželjno imati uvjete za primarno cijeljenje jer je tada postoperativno razdoblje kraće i manji je rizik za komplikacije.

Kada postoji veći gubitak tkiva i ozljeda stvori opsežniji defekt, proces obnavljanja je složeniji. Granulacijsko tkivo urasta iz rubova defekta i ispunjava ranu. Rana se u ovom slučaju ne tretira kirurškim zatvaranjem. Ovo se naziva sekundarnim cijeljenjem rane. Ono rezultira izraženijim ožiljkom u odnosu na primarno cijeljenje. Razlikuje se od primarnog u nekoliko aspekata: upalna reakcija je izraženija, formira se mnogo više granulacijskog tkiva te je tenzija rane znatnija.

Tercijarno cijeljenje predstavlja odgođeno primarno cijeljenje rane nakon četiri do šest dana. Kombinacija je primarnog i sekundarnog cijeljenja. Primjenjuje se kada je rana inficirana. Primarno se kirurški uklanja kontaminirano tkivo, a zatim nastupa sekundarno cijeljenje granulacijskim tkivom. Kada se rana potpuno očisti, zatvara se po principu primarnog cijeljenja (30).

### 2.2.3. Čimbenici koji utječu na cijeljenje rane

Odgovor tijela na oštećenje tkiva kod zdrave osobe je složen i slijedi uzastopni fiziološki proces koji rezultira pravovremenim zacjeljivanjem s potpunom reepitelizacijom i povratom funkcije zahvaćenog tkiva. Međutim, kronične rane koje su kontinuirano izložene uzročnom čimbeniku ne slijede ovaj niz događaja i zastaju u nekoj fazi cijeljenja, obično u fazi upale, bez napretka prema idućoj fazi. Neovisno o uzroku nastanka rane, višestruki su čimbenici koji mogu dovesti do njezina otežanog cijeljenja (31). Općenito, čimbenici koji utječu na proces cijeljenja mogu se podijeliti na lokalne i sistemske. Lokalni su čimbenici oni koji izravno utječu na ranu, dok su sistemski čimbenici povezani s općim zdravljem ili stanjem bolesti pojedinca koje utječe na sposobnost zacjeljivanja. Mnogi od ovih čimbenika međusobno su povezani (32).

- Lokalni čimbenici: oksigenacija tkiva, infekcija, prisutnost stranih tijela, neadekvatna prokrvljenost područja, veličina i dubina rane
- Sistemski čimbenici: komorbiditeti (dijabetes, pretilost, malnutricija, tiroidna disfunkcija), lijekovi (nesteroidni antireumatici, kortikosteroidi), onkološki slučajevi (radioterapija, kemoterapija), životne navike (pušenje, alkohol), dob, spolni hormoni, stres.

Iako se principi standardne njege rane (uključujući debridman, liječenje infekcije, drenažu ili redistribuciju pritiska, šivanje) primjenjuju na sve rane, prepoznavanje i liječenje čimbenika koji ometaju cijeljenje nužan je dio procjene pacijenta i plana terapije (31).

### **2.3. Učinak hijaluronske kiseline na pojedine faze cijeljenja rane**

Polimer hijaluronske kiseline u tijelu postoji u različitim veličinama, a svaka od tih molekularnih veličina ima specifičnu ulogu u određenoj fazi cijeljenja rane. Općenito se može reći da velike molekule hijaluronske kiseline služe popunjavanju prostora te imaju regulatornu i strukturnu ulogu, dok su manji fragmenti hijaluronske kiseline uključeni u procese angiogeneze, upale i imunostimulacije (33).

Dugački, teški polimeri hijaluronske kiseline (4000 do 20000 kDa, 1000 do 5000 saharida) koji se oslobađaju tijekom cijeljenja rane tvore umrežene hidrofilne lance. Ti lanci privlače vodu, što hijaluronskoj kiselini daje karakterističnu elastičnost i mekoću koja je izražena u koži i hrskavicama. Kada hijaluronska kiselina postoji u visokoj koncentraciji u navedenom obliku, stvara poroznu mrežu koja dopušta selektivnu difuziju stanica i proteina tvoreći putove za migraciju stanica. (34) To je jedna od njezinih najvažnijih uloga u cijeljenju s obzirom na to da su migracija stanica i proliferacija ključne za uspješno cijeljenje rane. (35) Manji molekularni fragmenti hijaluronske kiseline sastavljeni od četiri jedinice saharida također induciraju kemotaksiju, dok srednje veliki lanci (1000 do 1250 saharida) potiču ekspresiju upalnih citokina (33).

Budući da je hijaluronska kiselina potrebna u različitim oblicima i veličinama u različitim stadijima cijeljenja rane, njezina sinteza i razgradnja u tijelu od velikog su značaja za normalno odvijanje tih procesa. Sinteza hijaluronske kiseline odvija se na površini stanica pomoću tri enzima koji se tamo nalaze – sintaze hijaluronske kiseline (HAS1, HAS2, HAS3). Za razliku od drugih glikozaminoglikana koji se sintetiziraju unutar stanice i zatim izlučuju egzocitozom, hijaluronska kiselina nastaje na vanjskoj površini stanice, čime direktno dolazi u interakciju s drugim stanicama i hijaladherinima. (36) Hijaladherini su receptori na staničnim površinama čije su interakcije s hijaluronskom kiselinom važne u razvoju stanica i organa, migraciji stanica te odgovoru na oštećenje tkiva i upalu. Tri su glavne skupine ovih receptora: CD44, receptor za pokretljivost posredovan hijaluronskom kiselinom (RHAMM) i međustanična adhezijska molekula-1 (ICAM-1) (37).

CD44 glavni je receptor za hijaluronsku kiselinu. Prisutan je na staničnim membranama gotovo svih ljudskih stanica. Sposoban je vezati hijaluronsku kiselinu, ali može stupiti i u interakciju s drugim ligandima poput fibronektina, kolagena, osteopontina i matriksnih metaloproteinaza. Dokazano je da djeluje kao rezervoar čimbenika rasta. Uključen je u

kontrolu pretjeranog upalnog odgovora te u induciranje migracije fibroblasta u ozlijeđeno područje. Afinitet hijaluronske kiseline prema CD44 ovisi o njezinoj molekularnoj težini; povećani afinitet za vezu HA-CD44 povezan je s povećanjem polisaharidnog lanca. LMWHA također može stupiti u interakciju s CD44, ali učinci na ciljne stanice razlikuju se od onih uzrokovanih HMWHA-om. Trenutna hipoteza za ovaj fenomen jest da HMWHA može grupirati receptore na površini stanične membrane kako bi modulirala njihovu aktivnost, dok se LMWHA veže na ograničen broj CD44 receptorskih mjesta. Ovim djelovanjem hijaluronska kiselina s većom molekularnom težinom potiskuje proupalne citokine te potiskuje sintezu matriksnih metaloproteinaza (MMPs), proteoglikana i prostaglandina (37).

Niti hijaluronska kiselina niti CD44 sami po sebi ne mogu inducirati migraciju stanica i pospješiti cijeljenje; tek njihovom međusobnom interakcijom dolazi do aktiviranja navedenih procesa (38).

Receptor za staničnu pokretljivost posredovanu hijaluronskom kiselinom (RHAMM) prisutan je u nekoliko tipova stanica uključujući endotelne stanice i razne tumorske stanične linije. Intracelularni RHAMM stupa u interakciju s citoskeletnim proteinima i aktivira protein kinaze, što rezultira stimulacijom migracije stanica. Dokazano je da je blokiranje RHAMM signalizacije posredovane hijaluronskom kiselinom u kulturama glatkih mišića inhibiralo sposobnost migracije stanica. Interakcije hijaluronske kiseline i RHAMM-a igraju važnu ulogu u upali i obnavljanju tkiva pokrećući različite signalne putove i tako kontrolirajući stanice kao što su makrofagi i fibroblasti. Na površini stanice, RHAMM stupa u interakciju s CD44 i modulira staničnu pokretljivost, zacjeljivanje rana i prijenos signala.

Pretpostavlja se da dok CD44 i RHAMM mogu neovisno regulirati ponašanje stanica putem signalizacije hijaluronskom kiselinom, u nekim slučajevima oni surađuju ili barem imaju preklapajuće funkcije. Unatoč navedenom, još uvijek nisu razjašnjeni svi mehanizmi međudjelovanja ovih čimbenika u procesu cijeljenja te zahtijevaju daljnja istraživanja (38).

Katabolizam hijaluronske kiseline događa se ili putem šest enzima hijaluronidaza ili putem reaktivnih kisikovih radikala. Hijaluronidaze su odgovorne za cijepanje i dobivanje različitih veličina hijaluronske kiseline od kojih svaka ima svoju ulogu tijekom određene faze cijeljenja (36).

### **2.3.1. Hijaluronska kiselina u upalnoj fazi**

Tijekom upalne faze cijeljenja rane, sinteza hijaluronske kiseline značajno se povećava (39). Nakon oštećenja tkiva, fragmenti hijaluronske kiseline velike molekularne težine sintetiziraju se iz trombocita i hijaluronske kiseline dostupne u krvotoku. Ti novostvoreni fragmenti hijaluronske kiseline sposobni su vezati se uz fibrinogen kako bi započela kaskada vanjskog puta zgrušavanja. Hidrofilna svojstva molekula hijaluronske kiseline uzrok su velikog zasićenja područja rane tekućinom, što dovodi do stvaranja edema (33). Novostvorena otekline koja okružuje ranu predstavlja područje poroziteta koje omogućuje upalnim stanicama da migriraju na mjesto ozljede (34).

Sam upalni proces potaknut je primarnim citokinima: TNF- $\alpha$ -om, interleukinom-1 i interleukinom 8. Navedeni citokini aktiviraju se kada koncentracija hijaluronske kiseline poraste (40). Uzrokuju vazodilataciju koja doprinosi povećanom pritoku upalnih stanica u ranu. Vazodilatacija se prezentira kao crvenilo i toplina, što je klinički pokazatelj upalnog stadija cijeljenja rane (41). U svojoj formi visoke molekularne težine, hijaluronska kiselina biološki je inertna u pogledu sposobnosti da aktivira stanice imunološkog sustava. Međutim, u prisutnosti infekcije ili destrukcije tkiva, raspada se na komponente niske molekularne težine. Veličina tih fragmenata važna je u signalizaciji jer fragmenti veličine  $> 500$  kDa ili oni s manje od šest saharida ne postižu značajan učinak (42). LMWHA izaziva upalu putem aktivacije TLR receptora i pokretanja signalnih putova koji dovode do proizvodnje proupalnih citokina i kemokina (36). U istraživanju Powella i Hortona iz 2005. godine dokazano je kako LMWHA ima sposobnost aktivacije različitih stanica poput makrofaga, fibroblasta i epitelnih stanica koje onda luče proupalne citokine i enzime (npr. MMP-ove) (17). U fiziološkim uvjetima, aktivacija stanica imunološkog sustava ključna je za pravilno zacjeljivanje rana. U akutnim ranama, mali fragmenti hijaluronske kiseline koji se nakupljaju na mjestu ozljede aktiviraju imunološki sustav (36).

Za razliku od malih fragmenata hijaluronske kiseline, hijaluronska kiselina u svom prirodnom obliku velikog polimera pokazuje protuupalna i imunosupresivna svojstva.

Redukciju upalnog odgovora razvija putem interakcije s TSG-6. Njega aktiviraju upalni citokini koji potiču fibroblaste i druge upalne stanice na ekspresiju TSG-6 proteina. TSG6 proteini retiniraju u područjima zasićenim hijaluronskom kiselinom i vežu se uz polimere hijaluronske kiseline velike molekularne težine formirajući teške lance. Ti novostvoreni

lanci preveniraju upalnu reakciju inhibicijom migracije neutrofila i plazmina putem mehanizma negativne povratne sprege (36).

Ovaj mehanizam testiran je u istraživanju na mišjem modelu kojem su Wisniewski i sur. (1996.) izazvali upalu. Nakon primjene TSG-6, postignuto je smanjenje upale, usporedivo s kortikosteroidom deksametazonom. Iako ovo istraživanje pokazuje protuupalna svojstva TSG-6, laboratorijski uvjeti u studiji nisu tipični za normalno zacjeljivanje rana kod ljudi zbog čega bi se trebalo provesti bolje dizajnirano istraživanje. Kratko vrijeme utrošeno za indukciju upale (četiri sata), upotreba kortikosteroida i uski spektar ispitivanih proteinskih reakcija rane možda ne odražava u potpunosti kliničke uvjete (43). U spomenutom istraživanju Powella i Hortona zaključeno je kako HMWHA ima limitirani potencijal za izazivanje upale te se vjeruje da se protuupalni efekt postiže blokiranjem proupalnog učinka LMWHA, no točan mehanizam ovog djelovanja nije utvrđen (17).

### **2.3.2. Hijaluronska kiselina u proliferativnoj fazi**

Proliferativna faza cijeljenja rane označava početak migracije fibroblasta u ozlijeđeno područje (44). Ove dermalne stanice privučene su tkivu rane putem malih fragmenata hijaluronske kiseline (šest do dvadeset saharida) i čimbenika rasta (33). Fibroblasti stvaraju kolagen i glikozaminoglikane (uključujući hijaluronsku kiselinu) konstruirajući i pričvršćujući novoformirani izvanstanični matriks. Time dolazi do klinički vidljivog formiranja granulacijskog tkiva (1). Nakon ove faze nastupa proces angiogeneze te naposljetku epitelizacije.

U istraživanju Davida Raoudija i sur. (2008.) ispitivao se učinak fragmenata hijaluronske kiseline različite veličine (mali, srednji, veliki) na humane dermalne fibroblaste. Istraživanje je pokazalo da su testne skupine s različitim duljinama hijaluronske kiseline uzrokovale proliferaciju fibroblasta u statistički značajnijoj mjeri u usporedbi s kontrolnom skupinom. U svom radu također su uočili da specifične duljine hijaluronske kiseline stimuliraju proizvodnju specifičnih tipova kolagena, koji mogu promovirati ili inhibirati formiranje ožiljka (45). Kolagen, kao glavni protein vezivnih tkiva u tijelu, ima iznimno važnu ulogu u stvaranju izvanstaničnog matriksa koji pomaže u zacjeljivanju rana pružajući joj otpornost na rastezanje (46). Fibroblasti proizvode različite tipove kolagena, svaki sa svojom jedinstvenom strukturom i funkcijom (1).



Usporedno sa stvaranjem ekstracelularnog matriksa, makroskopski se uočava formiranje granulacijskog tkiva. Ono strukturalno odgovara svojstvima hijaluronske kiseline. Kolagen i elastin pružaju mu vlaknastu osnovu, dok hijaluronska kiselina "ispunjava praznine" i formira mekani gel (35). Tijekom upalne faze cijeljenja rane, dugi i teški lanci hijaluronske kiseline tvore ovaj gel zbog svoje hidrofilne prirode. Kada je zasićena, hijaluronska kiselina pokazuje elastična svojstva slična hrskavici. Ova svojstva važna su klinička karakteristika granulacijskog tkiva jer se cijeljenje rane često događa na područjima koja su podložna čestim pokretima ili pritiscima. Bez hidrofilnih i elastičnih svojstava hijaluronske kiseline, makroskopski granulacijsko tkivo ne bi moglo zadržati svoj oblik prilikom funkcije kako bi omogućilo normalno zacjeljivanje rane (1).

Unutar granulacijskog tkiva počinju se zatim razvijati nove krvne kapilare zbog većih metaboličkih potreba stanica prisutnih u rani. Upravo zbog pojačane angiogeneze, iako je granulacijsko tkivo elastično, ozbiljnija trauma može uzrokovati krvarenje (1). Hijaluronska kiselina doprinosi procesu angiogeneze putem svojih kratkih lanaca zvanih oligomeri, koji se sastoje od samo šest do dvadeset molekula (33). Oligomeri se vežu uz hijaladherin CD44 i djeluju kao poticajni fragmenti za oslobađanje MMP-a (47). Nakatani i sur. u svom istraživanju iz 2009. godine potvrdili su da u stanicama parodontnog ligamenta LMWHA potiče ekspresiju MMP-a (17). MMP su ključni za stvaranje novih kapilara tako što razgrađuju bazalnu membranu rane. To omogućuje da novi kapilarni izdanci izrastu iz postojećih (48).

Borgognoni i sur. (1996.) u svom su istraživanju proučavali niskomolekularnu hijaluronsku kiselinu i njezin utjecaj na angiogenezu. U njihovu istraživanju u štakora stvorene su primarne (zašivene) i sekundarne (otvorene) rane. Obje skupine tretirane su 0,2-postotnim gelom hijaluronske kiseline. Rezultati su pokazali povećanje mikrovaskularizacije u testnim skupinama u usporedbi s kontrolnim, ali samo su rane koje su cijelile sekundarno pokazale ubrzano cijeljenje. Dakle, pokazalo se da hijaluronska kiselina ima pozitivan učinak na cijeljenje samo u slučaju sekundarnih rana, dok primarne rane tretirane hijaluronskom kiselinom cijele odgođeno (49).

Posljednji događaj proliferativne faze cijeljenja je epitelizacija. Započinje vrlo rano nakon nastanka rane (44). Koža sadrži većinu hijaluronske kiseline tijela, koja je koncentrirana u dubljim međustaničnim slojevima (*stratum basale*) epidermisa, kao i u dermisu. U bazalnoj sloju prevladavaju keratinociti, koji izražavaju CD44 u velikim

količinama. U koži hijaluronska kiselina služi za hidrataciju *stratum basalea* stvarajući spomenute porozne strukture za prenošenje hranjivih tvari (50). Putem interakcija s CD44, keratinociti migriraju prema mjestu rane, skupljajući se na rubovima rane (40). Zatim s rubova rane migriraju prema sredini i prekrivaju ranu u potpunosti novim slojem epitelnih stanica (1). Ove nove stanice zatim se diferenciraju kako bi stvorile različite slojeve epidermisa koji pruža zaštitnu barijeru protiv infekcije i gubitka tekućine (51).

### **2.3.3. Hijaluronska kiselina u fazi remodeliranja**

U ovoj fazi stanice i strukture specifične za ranu, kao i hijaluronska kiselina, bivaju razgrađene i zamijenjene avaskularnim, kolagenim ožiljkom (1). Kolagen nastao tijekom ožiljkavanja nikada ne doseže snagu kakvu je posjedovala koža prije ozljede (51).

Klinički, završetkom cijeljenja minimalno ožiljno tkivo pojavljuje se s povećanjem dobi zbog toga što je hijaluronska kiselina prisutna uglavnom u gornjim slojevima dermisa. (30). Iako to dovodi do pretpostavke da se koncentracije hijaluronske kiseline u koži mijenjaju u različitoj dobi, Meyer i Stern (1994.) istraživanjem su utvrdili da se distribucija i količina hijaluronske kiseline održavaju konstantnima tijekom cijelog života. Sugeriraju da se iako količina hijaluronske kiseline ostaje ista, količina ekstrahirane hijaluronske kiseline mijenja s dobi zbog vezanja hijaladherina. To pokazuje da je hijaluronska kiselina prisutna u ljudskoj koži svih dobnih skupina, ali njezino mjesto i stupanj vezanja uz hijaladherine utječu na njezin doprinos stvaranju ožiljka (52). Nedavno provedena pretklinička studija u *in vitro* uvjetima dokazala je da hijaluronska kiselina potiče ekspresiju gena koji kodiraju tip III kolagena i TGF- $\beta$ , karakteristične za cijeljenje bez ožiljkavanja (53).

#### **2.4. Primjena hijaluronske kiseline u parodontologiji**

Hijaluronska kiselina predstavlja važnu komponentu ekstracelularnog matriksa mineraliziranih i nemineraliziranih tkiva, uključujući parodont. Prisutna je u većoj koncentraciji u mekim parodontnim tkivima – gingivi i parodontnom ligamentu, a u manjoj mjeri u cementu i alveolarnoj kosti. Sintetiziraju je sintaze hijaluronske kiseline prisutne u brojnim stanicama uključujući fibroblaste i keratinocite gingive i parodontnog ligamenta, cementoblaste i osteoblaste (17). Razlog za upotrebu HA u liječenju parodontne bolesti temelji se na nekoliko pretpostavki i primijećenim svojstvima HA. Vjeruje se da ta svojstva doprinose potencijalnoj učinkovitosti HA u upravljanju parodontnom bolesti, a mogu se sažeti na sljedeći način:

1. Antimikrobna svojstva: studije poput Pirnazara i sur. (1999.) te Carlsona i sur. (2004.) pokazale su da hijaluronska kiselina posjeduje antimikrobna svojstva. Ta svojstva sugeriraju da ona može pomoći u kontroli rasta i aktivnosti bakterija u parodontnim džepovima, što je ključni čimbenik u razvoju i napredovanju parodontne bolesti.
2. Protuupalna svojstva: Dahiya i Kamal (2013.) u svom su istraživanju izvijestili da HA ima protuupalna svojstva. Kronična parodontna bolest uključuje upalni odgovor koji doprinosi oštećenju tkiva i gubitku kosti. Zahvaljujući protuupalnom učinku, hijaluronska kiselina mogla bi pomoći u smanjenju upale povezane s parodontnom bolešću.
3. Proangiogenetski potencijal: Deed i sur. (1997.) pokazali su da hijaluronska kiselina ima svojstvo poticanja angiogeneze. U kontekstu parodontne bolesti, poboljšana opskrba krvlju zahvaćenih parodontnih tkiva mogla bi olakšati dostavu hranjivih tvari i stanica imunološkog sustava kako bi se olakšao proces ozdravljenja.
4. Osteoinduktivni potencijal: Sasaki i Watanabe (1995.), Mendes i sur. (2008., 2010.), Kawano i sur. (2011.) te de Brito Bezerra i sur. (2012.) ukazali su da hijaluronska kiselina ima osteoinduktivna svojstva. Osteoindukcija se odnosi na sposobnost poticanja stvaranja novog koštanog tkiva. U parodontnoj bolesti, gubitak kosti oko zuba česta je posljedica. Osteoinduktivni potencijal mogao bi pomoći u obnovi koštanog tkiva koje je izgubljeno zbog bolesti (17).

#### **2.4.1. Nekirurška parodontna terapija**

Nekirurško parodontno liječenje provodi se u svrhu ponovne uspostave biološke kompatibilnosti površina korijena zahvaćenih parodontnom bolesti, odnosno radi zaustavljanja daljnjeg napredovanja bolesti. Cilj terapije jest eliminirati žive bakterije u mikrobnom biofilmu, a i kalcificirane mikroorganizme biofilma koji se nalaze na površini korijena i okolnim mekim tkivima. Time se smanjuje bakterijsko opterećenje i posljedično upala parodonta s poboljšanjem kliničkog nalaza. Nekirurška terapija također je značajna jer se njome nastoje stvoriti uvjeti u kojima će pacijent moći tehnikama osobne oralne higijene lakše spriječiti rekolonizaciju patogenih mikroorganizama. Glavna metoda liječenja u ovom pristupu je struganje i poliranje korijena (SRP). Struganje se može provoditi ručnim instrumentima, zvučnim i ultrazvučnim strugačima, recipročnim instrumentima, a osim toga primjenjuje se i ablativna terapija laserom. Ključan korak nakon provedene nekirurške terapije je reevaluacija. Njome se procjenjuje učinkovitost prethodnog tretmana te po potrebi određuje daljnja terapija. Mjerenja koja služe za procjenu parodontnog stanja su vrijednosti plaka, krvarenje pri sondiranju, dubina sondiranja džepova, procjena pomičnosti, recesije te zahvaćenosti furkacija (54). Budući da je hijaluronska kiselina jedna od ključnih molekula u upali, formiranju granulacijskog tkiva, formiranju epitela i remodelaciji tkiva, određena su istraživanja provela analizu njezine uloge kao dodatka nekirurškoj terapiji parodontne bolesti i doprinosa cijeljenju parodontnog tkiva. U istraživanju Pagnacca A. i sur. (1997.) njezina protuupalna, antiedematozna i antibakterijska svojstva pokazala su se korisnima u kombinaciji s nekirurškom terapijom. Metaanaliza je potvrdila da nekirurško liječenje uz dodatak hijaluronske kiseline djeluje povoljno jer dovodi do dodatnog smanjenja dubine sondiranja (PD) (prosječno -0,36 mm), smanjenja gubitka pričvrška (CAL) (prosječno 0,73 mm) te redukcije krvarenja pri sondiranju (BOP) (prosječno -15 %) u usporedbi s konvencionalnim struganjem i poliranjem korijena nakon tri mjeseca. (55) S obzirom na rezultate sistematskog članka o smanjenju CAL-a kombinacijom dodatnih preparata sa SRP-om u odnosu na samo SRP (0,35 mm sa sistemskim antibioticima, 0,53 mm s diodnim laserom, 0,40 mm s klorheksidinom), hijaluronska kiselina mogla bi predstavljati zadovoljavajuću alternativu ovim najčešće primjenjivanim dopunskim terapijskim sredstvima (56). Još jedan sistematski pregledni članak potvrdio je poboljšanje ishoda nekirurške terapije uz upotrebu hijaluronske kiseline te doveo do

zaključka da njezin povoljan utjecaj na ishod liječenja nije povezan s načinom aplikacije (supragingivna i/ili subgingivna, frekvencija); pozitivni rezultati uočeni su i kod supragingivne i subgingivne aplikacije, kao i kod jednostruke i višestrukih aplikacija (17).

#### **2.4.1.1. Liječenje gingivitisa**

Gingivitis uzrokovan plakom smatra se najčešćim oblikom parodontalnih bolesti. Pojavljuje se na rubovima gingive i širi se *per continuitatem*. Klinički se prepoznaje po crvenilu, edemu, krvarenju, hiperplaziji gingive, a pacijent subjektivno izražava osjetljivost i bol. Razina epitelnog pričvrška i alveolarne kosti ostaju nepromijenjeni. Iako se bakterijska flora pacijenata s gingivitisom razlikuje od bakterijske flore zdravih pojedinaca, ne postoji određena bakterijska flora patognomična za gingivitis uzrokovan plakom. Ključna terapija gingivitisa podrazumijeva obavljanje osobne i profesionalne mehaničke oralne higijene (54).

Hijaluronska kiselina pokazala je pozitivan učinak na smanjenje indeksa krvarenja sulkusa i indeksa krvareće papile (PBI) u pacijenata s gingivitisom. Rezultati dobiveni ovim istraživanjem pokazali su da topikalna primjena pripravka koji sadrži hijaluronsku kiselinu predstavlja potencijalno koristan dodatak terapiji gingivitisa, iako njezina upotreba ne smanjuje nužnost kontrole plaka kao primarne terapijske mjere (57).

Jentsch i sur. potvrdili su da topikalna primjena 0,2-postotnog gela hijaluronske kiseline velike molekularne težine (Gengigel®; Ricerfarma, Milano, Italija) dva puta na dan tijekom tri tjedna ima povoljan učinak na liječenje gingivitisa, poboljšavajući rezultate indeksa plaka (PI), PBI-ja i varijable gingivne krevikularne tekućine (58).

Učinkovitost Gengigela (0,2-postotna hijaluronska kiselina) u liječenju gingivitisa uzrokovanog plakom, sa struganjem ili bez struganja korijena, kada se primjenjuje lokalno i intrasulkularno bila je predmet još jednog istraživanja. U svim grupama uočeno je značajno poboljšanje u vrijednostima PI-ja, PBI-ja te GI-ja, a najbolji rezultati dobiveni su kombinacijom struganja korijena i topikalne primjene gela. Smanjenje vrijednosti PI-ja nije bilo značajno prilikom usporedbe struganja korijena naspram struganja u kombinaciji s topikalnom primjenom hijaluronske kiseline, što je slično rezultatima Pagnacca i sur. (59).

Hijaluronska kiselina može biti dodatna terapija gingivitisa jer je pokazala protuupalna svojstva smanjujući kliničke znakove upale nakon tretmana uspoređujući s kontrolnim skupinama. Također je pokazala bakteriostatski, ali ne i baktericidni učinak na parodontopatogene [*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.), *Porphyromonas gingivalis* (P.g.) i *Prevotella oris*] u planktonskoj fazi, što je ovisilo o njezinoj koncentraciji i molekularnoj težini u *in vitro* uvjetima (17).

#### **2.4.1.2. Liječenje kroničnog parodontitisa**

Ako se gingivitis induciran plakom ne liječi, može prijeći u kronični parodontitis. Takvo stanje dovodi do ireverzibilnih promjena u obliku gubitka pričvrška i kosti. Inicijalna terapija parodontitisa podrazumijeva odstranjivanje subgingivnih i supragingivnih mekih i tvrdih naslaga. Klinički ishod ovisan je o vještini terapeuta, ali i o motiviranosti pacijenta za provođenje adekvatne oralne higijene (54).

Johannsen i sur. istraživali su učinak lokalne primjene 0,2 mL 0,8-postotnog gela hijaluronske kiseline subgingivno uz SRP u liječenju kroničnog parodontitisa. Ustanovili su značajno smanjenje vrijednosti BOP-a i PD-a u skupini koja je tretirana gelom i SRP-om u usporedbi sa skupinom koja je tretirana samo SRP-om (60).

Gontiya i sur. proučavali su kliničke i histološke rezultate lokalne subgingivne primjene 0,2-postotnog gela hijaluronske kiseline kao dodatka terapiji SRP-om kod pacijenata s kroničnim parodontitisom. Klinički parametri kao što su GI, BI, PPD i relativna razina pričvrška zabilježeni su na početku (nulti dan) te nakon četiri, šest i dvanaest tjedana. Istraživanje je dovelo do zaključka da subgingivna primjena 0,2-postotnog gela hijaluronske kiseline uz terapiju SRP-om značajno poboljšava gingivne parametre, ali dodatne koristi nisu pronađene u parodontnim parametrima. Rezultati su potvrđeni gingivnom biopsijom koja je pokazala značajnu redukciju upalnog infiltrata (61).

Polepalle i sur. potvrdili su da subgingivna primjena 0,2 mL 0,8-postotnog gela hijaluronske kiseline na kutnjake i očnjake, nakon terapije SRP-om, tijekom jednog tjedna dovodi do značajnog smanjenja BOP-a, PI-ja, PPD-a, CAL-a i broja mikrobnih kolonija (CFU) u usporedbi s kontrolnim područjem koje je tretirano samo terapijom SRP-om (62).

Bevilacqua i sur. dokazali su da subgingivna primjena 0,5 mL gela koji sadrži aminokiseline i hijaluronsku kiselinu nakon ultrazvučne mehaničke instrumentacije ima

povoljan učinak na poboljšanje parodontnih parametara kod pacijenata s umjerenim do teškim kroničnim parodontitisom u usporedbi s pacijentima koji su tretirani samo ultrazvučnim čišćenjem. Kombinirani tretman smanjio je PPD i BOP (62).

#### **2.4.1.3. Rekonstrukcija interdentalne papile**

Interdentalna papila dio je gingive koji zauzima područje ispod kontaktne točke između dva susjedna zuba. Ima prepoznatljive anatomske, histološke i molekularne karakteristike s iznimnim značajem s estetskog stajališta, posebno u prednjem segmentu jer se gotovo uvijek uočava pri osmijehu (63). Deficijencija interdentalne papile ili "crni trokut" smatra se jednom od estetski najvećih smetnji za pacijente, odmah nakon karijesa i vidljivih rubova krunica (64). Također, odsutnost interdentalne papile dovodi do zadržavanja ostataka hrane, što može negativno utjecati na zdravlje potpornih struktura zuba. Naposljetku, uzrokuje i fonetske probleme omogućavajući prolaz zraka i sline (65). Rekonstrukcija interdentalne papile jedan je od najizazovnijih parodontnih tretmana. Ona predstavlja mali, krhak prostor s ograničenom opskrbom krvlju, što se čini glavnim ograničavajućim čimbenikom u svim kirurškim i augmentacijskim tehnikama koje imaju za cilj rekonstrukciju interdentalne papile (66).

Predloženo je nekoliko kirurških pristupa tretiranju ovog problema primjenom tradicionalnih parodontnih plastičnih i augmentacijskih postupaka. Međutim, ove tehnike pokazale su se invazivnima s ograničenim uspjehom i ograničenom dugoročnom stabilnošću (67). Nekirurški pokušaji liječenja nedostatka papile uključuju ortodontske metode, restaurativne pristupe ili kombinaciju oboje. Međutim, ove metode su također invazivne, ali i vremenski zahtjevne (65).

Abdelraouf S. i sur. randomiziranim kliničkim istraživanjem procjenjivali su učinak gela hijaluronske kiseline na rekonstrukciju interdentalne papile. Nakon tri i šest mjeseci po završetku tretmana injiciranja gela hijaluronske kiseline u područje papila, evaluiran je klinički nalaz i zadovoljstvo pacijenata rezultatima, koje je pokazalo da je učinak hijaluronskog gela u terapiji gubitka papile učinkovit s odgovarajućim stupnjem zadovoljstva pacijenata (68).

U istraživanju Pitale U. i sur. upotrijebljeno je 0,2 mL gela hijaluronske kiseline koji je injiciran i umasiran tijekom dvije do tri minute u područja deficitarnih papila. Izrađene

su fotografije slučajeva, a procjena uspješnosti izvedena je kliničkim mjerenjima koja su uključila analizu visine papilarne recesije te interproksimalnu širinu i putem softvera za analizu slika gdje su se mjerile visina i širina crnog trokuta. Primjena HA gela u rekonstrukciji interdentalne papile pokazala se uspješnom. Sva navedena mjerenja pokazala su statistički značajnu razliku u odnosu na početno stanje nakon tri i šest mjeseci od terapije (69).

Istraživanje Ni J. i sur. potvrdilo je da su injekcije gela hijaluronske kiseline u područje baze deficitantne papile bile dugoročno efikasne u njezinoj rekonstrukciji, naročito kod pacijenata s debelim biotipom gingive (70).

Rezultati sistematskog preglednog članka koji su proveli Ficho A. C. i sur. ukazali su da je među uključenim istraživanjima tehnika injekcije hijaluronske kiseline u područje papile smanjila broj crnih trokuta za 88,80 do 91,7 % te je pokazala prosječno povećanje papila za 47,33 % u razdoblju od šest mjeseci.

#### **2.4.2. Kirurška parodontna terapija**

Kirurškoj parodontnoj terapiji pristupa se kada nekirurška terapija ne dovodi do zadovoljavajućih rezultata. Glavni cilj parodontne kirurgije je doprinijeti dugotrajnom očuvanju parodonta kvalitetnijim uklanjanjem plaka. To se postiže stvaranjem dostupnosti za temeljitije struganje i poliranje korijena te uspostavljanjem gingivne morfologije koja će pacijentu olakšati kontrolu plaka. Dodatan cilj parodontne kirurgije također je regeneracija parodontnog pričvrska koji može biti destruiran kod naprednijeg stadija bolesti (54).

Brojne studije ispitale su kako primjena hijaluronske kiseline uz različite kirurške zahvate kod parodontoloških pacijenata može utjecati na ishod i uspješnost liječenja.

Upotreba hijaluronske kiseline kao baktericidnog sredstva i dalje je kontroverzna, no studija koju su proveli Pirnazaro i sur. sugerira da bi hijaluronska kiselina u rasponu molekularne težine od 1,300 kD mogla biti korisna za smanjenje bakterijske kontaminacije kirurških rana kad se upotrebljava u kirurškim zahvatima vođene tkivne regeneracije (72).

Ballini i sur. otkrili su da autologna kost kombinirana s esterificiranom niskomolekularnom hijaluronskom kiselinom ima dobre sposobnosti za ubrzanje formiranja nove kosti u infrakoštanim defektima (73).



Leonardo je 2009. istraživao kliničku učinkovitost esterificirane hijaluronske kiseline (u obliku vlakana) za liječenje dubokih parodontnih defekata. Odabrano je 18 infrakoštanih defekata i jedna furkacija donjeg molara za postavljanje vlakana hijaluronske kiseline. Nakon godinu dana liječenja, prosječni PPD smanjio se za 5,8 mm, a dobitak pričvrška iznosio je 2,8 mm (74).

El-Sayed i sur. su u randomiziranom kontroliranom ispitivanju procijenili učinak lokalne primjene 0,8-postotnog gela hijaluronske kiseline u sklopu parodontne kirurgije. Nakon početne nekirurške terapije i potom provedene reevaluacije, defekti su nasumično dodijeljeni za tretman modificiranog Widmanova režnja u kombinaciji s primjenom ili 0,8-postotnog gela hijaluronske kiseline (testna skupina) ili placebo (kontrolna skupina). Statistički značajne razlike primijećene su u kliničkoj razini pričvrška i gingivnim recesijama ( $P < 0,05$ ) u korist testne skupine. No, nisu dobiveni značajni rezultati u vezi s vrijednostima dubine parodontnih džepova, krvarenja pri sondiranju i indeksa plaka ( $P > 0,05$ ) (75).

Sistematski pregledni članak utvrdio je da je upotreba hijaluronske kiseline kao dodatka SRP-u i kirurškoj parodontnoj kirurgiji rezultirala pozitivnim učincima na kliničke ishode terapije (PD, CAL, BOP i popunjavanje koštanih defekata) (17).

Nedavno provedena metaanaliza uključila je dva istraživanja o učinku hijaluronske kiseline kao dodatka kirurškoj terapiji parodontitisa. Dvije randomizirane kontrolirane studije procijenile su učinkovitost hijaluronske kiseline kao dodatka kirurškoj terapiji (otvoreni debridman) kod pacijenata s kroničnim parodontitisom. U oba istraživanja intrakoštani defekti tretirani su ili otvorenim debridmanom u kombinaciji s hijaluronskom kiselinom (testna skupina) ili samo otvorenim debridmanom (kontrolna skupina). Rezultati su pokazali da je nakon šest do dvadeset i četiri mjeseca dodatna primjena hijaluronske kiseline znatno poboljšala kliničke rezultate, što je bilo vidljivo u smanjenju PD-a i CAL-a u usporedbi sa samo otvorenim debridmanom sugerirajući da hijaluronska kiselina ima koristan učinak kad se upotrebljava kao dodatak parodontnoj kirurgiji.

Klinički pozitivni učinci HA prikazani ovom metaanalizom usklađeni su s rezultatima nekoliko pretkliničkih i kliničkih studija. Prikaz slučaja kirurške parodontne terapije u kombinaciji s hijaluronskom kiselinom i autolognom kosti pokazao je zadovoljavajući klinički ishod bez upotrebe membrane.

HA također je pokazala utjecaj na povećanje aktivnosti osteoblasta stimuliranjem diferencijacije i migracije mezenhimalnih stanica (55).

### **3. RASPRAVA**

Hijaluronska kiselina nesulfatirani je glikozaminoglikan koji predstavlja važnu komponentu ekstracelularnog matriksa. Zbog varijacija u molekularnoj težini, njezini derivati mogu se upotrijebiti za dobivanje različitih formulacija poput gelova, krema, kapi. Zahvaljujući svojstvima kao što su mukoadhezija, biokompatibilnost, neimunogenost i mogućnost kemijske modifikacije, hijaluronska kiselina počela se upotrebljavati u tkivnoj regeneraciji, protuupalnoj te *anti-age* terapiji (5).

Ovisno o vrsti tkiva, različite koncentracije i molekularne težine hijaluronske kiseline imaju različit utjecaj na stanični odgovor. HMWHA polimeri služe popunjavanju prostora te djeluju antiangiogeni i imunosupresivno. Lanci hijaluronske kiseline srednje veličine uključeni su u procese embriogeneze, ovulacije, regeneracije i cijeljenja. Oligosaharidi s 15 do 50 ponavljajućih jedinica disaharida djeluju proupalno, imunostimulirajuće, angiogeno i sudjeluju u ekspresiji gena. Mali oligomeri (400 do 4000 Da) djeluju antiapoptotski i potiču oslobađanje proteina toplinskog šoka (12).

Cijeljenje rane uključuje kompleksan slijed procesa kao što su kemotaksija, neovaskularizacija, sinteza novog ekstracelularnog matriksa, formacija i remodelacija ožiljkastog tkiva. Ti događaji regulirani su medijatorima poput trombocita, upalnih stanica, citokina, čimbenika rasta, matriksnih metaloproteinaza i njihovih inhibitora. U akutnim ranama, ovi procesi uključuju četiri preklapajuće, ali dobro definirane faze: hemostazu, upalu, proliferaciju i remodelaciju (1).

Tijekom cijeljenja oslobađaju se veliki polimeri hijaluronske kiseline s 1000 do 5000 saharida koji tvore umrežene hidrofilne lance i oblikuju poroznu mrežu koja omogućuje selektivnu difuziju stanica. Mogućnost adekvatne migracije stanica u područje rane ključno je kako bi cijeljenje bilo uspješno. (34) Hijaladherini su receptori za hijaluronsku kiselinu koji se nalaze na staničnim površinama, a tek njihovom međusobnom interakcijom ostvaruje se učinak na migraciju stanica i cijeljenje rane (38).

Nakon oštećenja tkiva, fragmenti hijaluronske kiseline velike molekulske težine vežu se uz fibrinogen i započinju kaskadu vanjskog puta zgrušavanja. U upalnoj fazi cijeljenja hidrofilna svojstva koja posjeduje hijaluronska kiselina dovode do nakupljanja tekućine i stvaranja edema, a upalne stanice počinju migrirati na mjesto ozljede (33, 34).

Upalni proces potaknut je citokinima koji se aktiviraju upravo kada koncentracija hijaluronske kiseline poraste. Oni uzrokuju vazodilataciju koja povećava priljev upalnih stanica u ranu (40, 41).

Istraživanje Powella i Hortona iz 2005. godine pokazalo je da LMWHA aktivira stanice poput makrofaga, fibroblasta i epitelne stanice koje potom luče proupalne citokine i aktiviraju upalu (17).

S druge strane, istraživanja Wisniewskija i sur. (1996.) te Powella i Hortona (2005.) ukazala su na činjenicu da HMWHA ima potpuno suprotan učinak od LMWHA, odnosno da reducira upalni odgovor, iako mehanizam koji to čini još nije točno definiran (17).

U proliferativnoj fazi cijeljenja važnu ulogu imaju fibroblasti koji putuju prema tkivu rane privučeni malim fragmentima hijaluronske kiseline i čimbenicima rasta te stvaraju kolagen i formiraju granulacijsko tkivo (33). Istraživanje Davida Raoudija i sur. dokazalo je da različite duljine hijaluronske kiseline uzrokuju proliferaciju fibroblasta u statistički značajnijoj mjeri od kontrolne skupine. Također se pokazalo da specifične duljine hijaluronske kiseline stimuliraju proizvodnju točno određenih tipova kolagena, koji onda promoviraju/inhibiraju stvaranje ožiljka (45). Granulacijsko tkivo u ovoj fazi ne bi moglo zadržati svoj oblik tijekom pokreta/pritisaka, da ne posjeduje hidrofилna i elastična svojstva hijaluronske kiseline (1). LMWHA indirektno potiče i angiogenezu putem ekspresije MMP-a, što je potvrđeno u stanicama parodontnog ligamenta u istraživanju Nakatanija i sur. (17). Borgognoni i sur. u svom radu proučavali su učinak 0,2-postotne hijaluronske kiseline na primarne i sekundarne rane. Mikrovaskularizacija je povećana u testnim skupinama u usporedbi s kontrolnim, ali samo u slučaju sekundarnih rana. Unatoč tomu, izravan učinak hijaluronske kiseline na mikrovaskularizaciju u sekundarnim ranama upitan je zbog više razloga. U radu se upotrijebila hijaluronska kiselina niske koncentracije (0,2 %) u otopini natrijeva alginata. Kod tako niske koncentracije, hijaluronska kiselina možda nema terapijski učinak, a što je još važnije, natrijev alginat je materijal koji strukturno sličí hijaluronskoj kiselini te nema saznanja kakav je njegov utjecaj na angiogenezu, što može utjecati na rezultate istraživanja (49). U posljednjoj fazi, remodelaciji, stanice i strukture specifične za ranu razgrađene su i zamijenjene kolagenim ožiljkom (1). Pretkliničko istraživanje u *in vitro* uvjetima pokazalo je da hijaluronska kiselina ima ulogu u ovoj fazi tako što potiče ekspresiju gena koji kodiraju kolagen tip III i TGF-beta, karakteristične za cijeljenje bez ožiljkavanja (55).

Hijaluronska kiselina predložena je kao samostalna terapija ili kao dodatak kirurškoj i nekirurškoj parodontnoj terapiji zbog svog učinka na smanjenje upale i poticanje cijeljenja rana (17). Metaanaliza provedena 2019. utvrdila je da nekirurška terapija

parodontitisa uz dodatak hijaluronske kiseline dovodi do smanjenja dubine sondiranja (prosječno -0,36 mm), smanjenja gubitka pričvrška (prosječno 0,73 mm) te redukcije krvarenja pri sondiranju (prosječno -15 %) u usporedbi sa samo terapijom SRP-om nakon tri mjeseca (55). Sistematski pregledni članak koji su proveli Bertl i sur. (2015.) u većini uključenih studija dao je pozitivne, iako umjerene rezultate u korist hijaluronske kiseline kao dodatka kirurškoj/nekirurškoj terapiji, kada se pratio BOP i PD, u usporedbi s kontrolama (17). Učinak hijaluronske kiseline u terapiji gingivitisa proučavali su Jentsch i sur. koji su potvrdili da topikalna primjena 0,2-postotnog gela hijaluronske kiseline dva puta na dan tijekom tri tjedna ima povoljan učinak na PI, PBI i GCF (58). Sapna i sur. također su u svom radu uočili značajno poboljšanje u vrijednostima PI-ja, GBI-ja te GI-ja nakon upotrebe 0,2-postotne hijaluronske kiseline u terapiji gingivitisa, no smanjenje vrijednosti indeksa plaka nije se pokazalo značajnim prilikom usporedbe SRP-a naspram SRP-a u kombinaciji s hijaluronskom kiselinom, što je u skladu s rezultatima dobivenim u istraživanju Pistoriusa iz 2005., odnosno ukazuje da HA može biti potencijalna terapija gingivitisa, iako njezina upotreba ne smanjuje nužnost kontrole plaka kao primarne terapijske mjere (57, 59). Subgingivno primijenjeno 0,2 mL 0,8-postotnog gela hijaluronske kiseline uz terapiju SRP-om dovelo je do značajnog smanjenja vrijednosti BOP-a i PD-a u usporedbi s kontrolnom skupinom i kod pacijenata s kroničnim parodontitisom (60). Polepalle i sur. te Bevilacqua i sur. također su dokazali da pripravci hijaluronske kiseline dovode do poboljšanja u gingivnim i parodontnim parametrima, dok je istraživanje Gontije i sur. zaključilo da unatoč značajnim poboljšanjima gingivnih parametara prilikom upotrebe 0,2-postotnog gela hijaluronske kiseline uz terapiju SRP-om, dodatne koristi nisu pronađene u gingivnim parametrima (61, 62). Sistematski pregledni članak na temu djelovanja hijaluronske kiseline u rekonstrukciji interdentalne papile ukazao je da je među uključenim istraživanjima tehnika injekcije hijaluronske kiseline u područje papile smanjila broj crnih trokuta za 88,80 do 91,7 % te je pokazala prosječno povećanje papila za 47,33 % u razdoblju od šest mjeseci. Unatoč tomu, postoje određena ograničenja ovog članka. Glavno ograničenje odnosi se na mali broj studija dostupnih u literaturi. Stoga su potrebne dodatne studije s većim brojem sudionika i duljim praćenjem.

Standardizacija metoda primjene gela hijaluronske kiseline i analiza rezultata također su čimbenici koji zahtijevaju poboljšanje. Poželjno bi bilo provesti dodatna randomizirana

klinička istraživanja kako bi se povećala znanstvena potpora (71). Konačno, brojna istraživanja bavila su se učinkom hijaluronske kiseline u različitim kirurškim zahvatima kod parodontoloških pacijenata. Metaanaliza obuhvatila je dva randomizirana kontrolirana istraživanja o učinku hijaluronske kiseline kao dodatka operaciji režnja. Pokazala je da je nakon šest do dvadeset i četiri mjeseca dodatna primjena hijaluronske kiseline znatno poboljšala kliničke rezultate, što je bilo vidljivo u smanjenju PD-a i CAL-a u usporedbi sa samo otvorenim debridmanom sugerirajući da hijaluronska kiselina ima koristan učinak kad se upotrebljava kao dodatak parodontnoj kirurgiji (55). Sistematski pregledni članak nije dao jasne zaključke može li HA kao dodatak kirurškoj terapiji infraakoštanih defekata rezultirati smanjenjem CAL-a u usporedbi sa samim kirurškim zahvatom (17).

Zaključno, primjena hijaluronske kiseline u nekirurškoj i kirurškoj parodontnoj terapiji generalno se može smatrati sigurnom, s obzirom na to da nije zabilježeno da uzrokuje nuspojave (17). Unatoč tomu, zbog heterogenosti provedenih studija, odnosno različitih terapijskih protokola i različitih oblika i koncentracija hijaluronske kiseline koji su bili primijenjeni u istraživanjima, najadekvatniji pripravak hijaluronske kiseline za kliničku primjenu još uvijek je nepoznat. Također, istraživanja su provodila terapiju tijekom različitog vremena i različitom frekvencijom. Stoga je potrebno provesti daljnja istraživanja s boljom standardizacijom vremena aplikacije, doze, forme i koncentracije hijaluronske kiseline (4, 55).

#### **4. ZAKLJUČAK**



Istraživanja su pokazala da hijaluronska kiselina, glikozaminoglikan prirodno prisutan u većini tkiva i organa ljudskog organizma, ima značajnu ulogu u cijeljenju rane. Sudjeluje u brojnim procesima koji se odvijaju tijekom cijeljenja, kao što su hemostaza, migracija stanica, upala, formacija granulacijskog tkiva, angiogeneza, reepitelizacija i remodelacija tkiva. Zahvaljujući navedenom, kao i svojstvima biokompatibilnosti, neimunogenosti i mogućnosti modifikacije, sve se više proučava terapijska primjena hijaluronske kiseline u cijeljenju i regeneraciji parodontnog tkiva. Unatoč brojnim studijama koje su pokazale kako hijaluronska kiselina ima potencijal za primjenu u nekirurškoj i kirurškoj terapiji gingivitisa i parodontitisa te rekonstrukciji interdentalne papile, zbog pristranosti i heterogenosti provedenih studija, potrebno je provesti dodatna randomizirana kontrolirana istraživanja s boljom standardizacijom terapijskog protokola.

## **5. LITERATURA**

1. Enoch S , Leaper D. Basic science of wound healing. *Surgery* 2005 ; 23 : 37 – 42.
2. Slavin J. The role of cytokines in wound healing. *J Pathol* 1996;178:5–10
3. David-Raoudi M, Tranchepain F, Deschrevel B, Vincent JC, Bogdanowicz P, Boumedene K, Pujol JP. Differential effects of hyaluronan and its fragments on fibroblasts: relation to wound healing. *Wound Repair Regen* 2008;16:274–87
4. Dahiya P, Kamal R. Hyaluronic Acid: a boon in periodontal therapy. *N Am J Med Sci.* 2013 May;5(5):309-15.
5. Vasvani S, Kulkarni P, Rawtani D. Hyaluronic acid: A review on its biology, aspects of drug delivery, route of administrations and a special emphasis on its approved marketed products and recent clinical studies. *Int J Biol Macromol.* 2020 May 15;151:1012-1029.
6. Juncan AM, Moisă DG, Santini A, Morgovan C, Rus LL, Vonica-Țincu AL, Loghin F. Advantages of Hyaluronic Acid and Its Combination with Other Bioactive Ingredients in Cosmeceuticals. *Molecules.* 2021 Jul 22;26(15):4429.
7. Fraser JR, Laurent TC, Laurent UB. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *J Intern Med.* 1997 Jul;242(1):27-33.
8. de Oliveira JD, Carvalho LS, Gomes AM, Queiroz LR, Magalhães BS, Parachin NS. Genetic basis for hyper production of hyaluronic acid in natural and engineered microorganisms. *Microb Cell Fact.* 2016 Jul 1;15(1)
9. Dube MF, inventor; RJ Reynolds Tobacco Co, assignee. Process for producing flavorants and related materials. United States patent application US 10/188,137. 2019 Jan 29.
10. Campoccia D, Doherty P, Radice M, Brun P, Abatangelo G, Williams DF. Semisynthetic resorbable materials from hyaluronan esterification. *Biomaterials.* 1998;19(23):2101-7
11. Neuman MG, Nanau RM, Oruña-Sanchez L, Coto G. Hyaluronic acid and wound healing. *J Pharm Pharm Sci.* 2015;18(1):53-60.
12. Al-Khateeb R, Prpic J. Hyaluronic Acid: The Reason for Its Variety of Physiological and Biochemical Functional Properties. *Appl Clin Res Clin Trials Regul Aff.* 2019;6(2):112-59.
13. J. W. Kuo, *Practical Aspects of Hyaluronan Based Medical Products*, CRC/Taylor & Francis, Boca Raton 2006
14. Allison DD, Grande-Allen KJ. Review. Hyaluronan: a powerful tissue engineering tool. *Tissue Eng.* 2006 Aug;12(8):2131-40.

15. Burdick JA, Prestwich GD. Hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications. *Adv Mater*. 2011 Mar 25;23(12):H41-56.
16. Xu X, Jha AK, Harrington DA, Farach-Carson MC, Jia X. Hyaluronic Acid-Based Hydrogels: from a Natural Polysaccharide to Complex Networks. *Soft Matter*. 2012;8(12):3280-94.
17. Bertl K, Bruckmann C, Isberg PE, Klinge B, Gotfredsen K, Stavropoulos A. Hyaluronan in non-surgical and surgical periodontal therapy: a systematic review. *J Clin Periodontol*. 2015 Mar;42(3):236-46.
18. Slevin M, Krupinski J, Gaffney J et al. Hyaluronan mediated angiogenesis in vascular disease: uncovering RHAMM and CD44 receptor signaling pathways. *Matrix Biol* 2007; 26: 58–68.
19. Salwowska NM, Bebenek KA, Żądło DA, Wcisło-Dziadecka DL. Physicochemical properties and application of hyaluronic acid: a systematic review. *J Cosmet Dermatol*. 2016 Dec;15(4):520-526.
20. Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci* 2004;9:283-9
21. Brandt MT, Jenkins WS. Suturing Principles for the Dentoalveolar Surgeon. *Dental Clinics of North America*. 2012;56(1):281–303.
22. Efron JE, Frankel HL, Lazarou SA, Wasserkrug HL, Barbul A. Wound healing and T-lymphocytes. *J Surg Res* 1990;48:460-3
23. Harding KG, Morris HL, Patel GK. Science, medicine and the future: healing chronic wound. *BMJ* 2002;324: 160-3.
24. Mendonça RJ, Coutinho-Netto J. Cellular aspects of wound healing. *An Bras Dermatol* 2009;84:257-262.
25. Ruthenborg RJ, Ban JJ, Wazir A, Takeda N, Kim JW. Regulation of wound healing and fibrosis by hypoxia-inducible factor-1. *Mol Cells* 2014;37:637-43.
26. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003;83: 835-70.
27. Nissen NN, Polverini PJ, Koch AE, Volin MV, Gamelli RL, DiPietro LA. Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *Am J Pathol* 1998;152:1445-52.

28. Batičić Pučar L, Grčić A, Pernjak Pugel E, Detel D, Varljen J. Proces cijeljenja rane i dipeptidil-peptidaza IV. *Medicina Fluminensis* [Internet]. 2017 [pristupljeno 04.09.2023.];53(1):4-15.
29. Le A, Shetty V. Normal wound healing: Physiology. In: Andresson L, Kahnberg KE, Pogrel MA. *Oral and Maxillofacial surgery*. 1. izd. Singapore: Wiley-Blackwell; 2010. p. 165-6
30. Chhabra S, Chhabra N, Kaur A, Gupta N. Wound Healing Concepts in Clinical Practice of OMFS. *J Maxillofac Oral Surg*. 2017 Dec;16(4):403-423.
31. Anderson K, Hamm RL. Factors That Impair Wound Healing. *J Am Coll Clin Wound Spec*. 2014 Mar 24;4(4):84-91.
32. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res*. 2010 Mar;89(3):219-29.
33. Stern R, Asari AA, Sugahara KN. Hyaluronan fragments: an information-rich system. *Eur J Cell Biol*. 2006 Aug;85(8):699-715.
34. Toole BP. Hyaluronan: from extracellular glue to pericellular cue. *Nat Rev Cancer*. 2004 Jul;4(7):528-39.
35. Chen WY, Abatangelo G. Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound Repair Regen*. 1999 Mar-Apr;7(2):79-89.
36. Frenkel JS. The role of hyaluronan in wound healing. *Int Wound J*. 2014 Apr;11(2):159-63.
37. Marinho A, Nunes C, Reis S. Hyaluronic Acid: A Key Ingredient in the Therapy of Inflammation. *Biomolecules* [Internet]. 2021 Oct 15;11(10):1518.
38. Litwiniuk M, Krejner A, Speyrer MS, Gauto AR, Grzela T. Hyaluronic Acid in Inflammation and Tissue Regeneration. *Wounds*. 2016 Mar;28(3):78-88.
39. Oksala O, Salo T, Tammi R, Kakkien L, Jalkanen M, Inki P, Larjava H. Expression of proteoglycans and hyaluronan during wound healing. *J Histochem Cytochem* 1995. ; 43 :125 – 35.
40. Chen J, Abetangelo G. Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound Repair Regen* 1999. ; 7 : 79 – 89.
41. Halloran CM, Slavin J. Pathophysiology of wound healing. *Surgery* 2002. ; 20 : i –v.
42. Powell, J.D., Horton, M.R. Threat matrix. *Immunol Res* 31, 207–218 (2005).

43. Wisniewski HG, Vilcek J. TSG-6: an IL-1/TNF-inducible protein with anti-inflammatory activity. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1997 Jun;8(2):143-56.
44. Halloran CM, Slavin J. Pathophysiology of wound healing. *Surgery* 2002; 20 : i – v.
45. David-Raoudi M, Tranchepain F, Deschrevel B, Vincent JC, Bogdanowicz P, Boumedene K, Pujol JP. Differential effects of hyaluronan and its fragments on fibroblasts: relation to wound healing. *Wound Repair Regen* 2008; 16 : 274 – 87.
46. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology Of The Cell. Part V: Cells in their social context: Cell junctions, Cell Adhesion and the Extracellular Matrix* 5 ed., 2008; pp. 1131 – 1204.
47. Noble PN, Jiang D, Liang J. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiol Rev* 2011; 91 : 221 – 64.
48. Pardue EL, Ibrahim S, Ramamurthi A. Role of hyaluronan in angiogenesis and its utility to angiogenic tissue engineering. *Organogenesis.* 2008 Oct;4(4):203-14.
49. Borgognoni L, Reali UM, Santucci M. Low-molecular-weight hyaluronic-acid induces angiogenesis and modulation of the cellular infiltrate in primary and secondary healing wounds. *Eur J Dermatol* 1996; 6 : 127 – 31.
50. Juhlin L. Hyaluronan in skin. *J Intern Med.* 1997 Jul;242(1):61-6.
51. Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. *Plast Reconstr Surg.* 2006 Jun;117(7 Suppl):1e-S-32e-S.
52. Meyer LJ, Stern R. Age-dependent changes of hyaluronan in human skin. *J Invest Dermatol.* 1994 Mar;102(3):385-9.
53. Asparuhova MB, Kiryak D, Eliezer M, Mihov D, Sculean A. Activity of two hyaluronan preparations on primary human oral fibroblasts. *J Periodontal Res.* 2019 Feb;54(1):33-45.
54. Lindhe J, Lang NP, Karring T, Berglundh T, urednici. *Clinical periodontology and implant dentistry.* 5. ed. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2008.
55. Eliezer M, Imber JC, Sculean A, Pandis N, Teich S. Hyaluronic acid as adjunctive to non-surgical and surgical periodontal therapy: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig.* 2019 Sep;23(9):3423-3435.
56. Smiley CJ, Tracy SL, Abt E, Michalowicz BS, John MT, Gunsolley J, Cobb CM, Rossmann J, Harrel SK, Forrest JL, Hujoel PP, Noraian KW, Greenwell H, Frantsve-Hawley J, Estrich C, Hanson N. Evidence-based clinical practice guideline on the

- nonsurgical treatment of chronic periodontitis by means of scaling and root planing with or without adjuncts. *J Am Dent Assoc.* 2015 Jul;146(7):525-35.
57. Pistorius A, Martin M, Willershausen B, Rockmann P. The clinical application of hyaluronic acid in gingivitis therapy. *Quintessence Int.* 2005 Jul-Aug;36(7-8):531-8.
58. Jentsch H, Pomowski R, Kundt G, Göcke R. Treatment of gingivitis with hyaluronan. *J Clin Periodontol.* 2003 Feb;30(2):159-64.
59. Sapna N, Vandana KL. Evaluation of hyaluronan gel (Gengigel®) as a topical applicant in the treatment of gingivitis. *J Investig Clin Dent.* 2011 Aug;2(3):162-70.
60. Johannsen A, Tellefsen M, Wikesjö U, Johannsen G. Local delivery of hyaluronan as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2009 Sep;80(9):1493-7.
61. Gontiya G, Galgali SR. Effect of hyaluronan on periodontitis: A clinical and histological study. *J Indian Soc Periodontol.* 2012 Apr;16(2):184-92.
62. Casale M, Moffa A, Vella P, Sabatino L, Capuano F, Salvinelli B, Lopez MA, Carinci F, Salvinelli F. Hyaluronic acid: Perspectives in dentistry. A systematic review. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2016 Dec;29(4):572-582.
63. Csiszar A, Wiebe C, Larjava H, Häkkinen L. Distinctive molecular composition of human gingival interdental papilla. *J Periodontol.* 2007 Feb;78(2):304-14.
64. Cunliffe J, Pretty I. Patients' ranking of interdental "black triangles" against other common aesthetic problems. *Eur J Prosthodont Restor Dent.* 2009 Dec;17(4):177-81.
65. Lee WP, Kim HJ, Yu SJ, Kim BO. Six Month Clinical Evaluation of Interdental Papilla Reconstruction with Injectable Hyaluronic Acid Gel Using an Image Analysis System. *J Esthet Restor Dent.* 2016 Jul;28(4):221-30.
66. Singh VP, Uppoor AS, Nayak DG, Shah D. Black triangle dilemma and its management in esthetic dentistry. *Dent Res J (Isfahan).* 2013 May;10(3):296-301.
67. Georgieva I, Peev S, Gerova T, Mitteva M, Bazitova-Zlazitova-Zlateva M. Interdental papillae height assessment in the aesthetic zone of the maxilla. *Scripta Scientifica Medicinae Dentalis.* 2017;3:11–16.
68. Abdelraouf SA, Dahab OA, Elbarbary A, El-Din AM, Mostafa B. Assessment of Hyaluronic Acid Gel Injection in the Reconstruction of Interdental Papilla: A Randomized Clinical Trial. *Open Access Maced J Med Sci.* 2019 Jun 14;7(11):1834-1840.

69. Pitale U, Pal PC, Thakare G, Verma M, Dhakad S, Pandey R. Minimally invasive therapy for reconstruction of lost interdental papilla by using injectable hyaluronic acid filler. *J Indian Soc Periodontol.* 2021 Jan-Feb;25(1):22-28.
70. Ni J, Shu R, Li C. Efficacy Evaluation of Hyaluronic Acid Gel for the Restoration of Gingival Interdental Papilla Defects. *J Oral Maxillofac Surg.* 2019 Dec;77(12):2467-2474.
71. Ficho AC, de Souza Faloni AP, Pennisi PRC, Borges LGF, de Macedo Bernadino Í, Paranhos LR, Queiroz TP, Santos PL. Is interdental papilla filling using hyaluronic acid a stable approach to treat black triangles? A systematic review. *J Esthet Restor Dent.* 2021 Apr;33(3):458-465.
72. Pirnazar P, Wolinsky L, Nachnani S, Haake S, Piloni A, Bernard GW. Bacteriostatic effects of hyaluronic acid. *J Periodontol.* 1999 Apr;70(4):370-4.
73. Ballini A, Cantore S, Capodiferro S, Grassi FR. Esterified hyaluronic acid and autologous bone in the surgical correction of the infra-bone defects. *Int J Med Sci.* 2009;6(2):65-71.
74. Vanden Bogaerde L. Treatment of infrabony periodontal defects with esterified hyaluronic acid: clinical report of 19 consecutive lesions. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2009 Jun;29(3):315-23.
75. Fawzy El-Sayed KM, Dahaba MA, Aboul-Ela S, Darhous MS. Local application of hyaluronan gel in conjunction with periodontal surgery: a randomized controlled trial. *Clin Oral Investig.* 2012 Aug;16(4):1229-36.



## **6. ŽIVOTOPIS**

Helena Čular rođena je 10. svibnja 1998. godine u Zagrebu. U Šenkovcu završava Osnovnu školu Ivana Perkovca. Nakon završene osnovne škole pohađa Gimnaziju Lucijana Vranjanina u Zagrebu. Studij dentalne medicine na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisuje 2016. godine. Od druge godine studija redovito je asistirala u privatnoj ordinaciji dentalne medicine.