Міністерство освіти і науки України
Сумський державний університет

Є. В. Кузенко, А. М. Романюк

Запальні захворювання пародонта: патогенез та морфогенез

Монографія

Рекомендовано вченою радою Сумського державного університету

Суми
Сумський державний університет
2016

УДК 616.314.17-008.1
ББК 56.612.1
К89

Рецензенти:
А. О. Гаврилюк – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри патологічної анатомії, судової медицини та права Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (м. Вінниця);
О. С. Проценко – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри загальної та клінічної патології медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (м. Харків)

Рекомендовано до видання вченою радою Сумського державного університету (протокол № 7 від 14 квітня 2016 року)

Кузенко Є. В.
К89 Запальні захворювання пародонта: патогенез та морфогенез: монографія / Є. В. Кузенко, А. М. Романюк. – Суми: Сумський державний університет, 2016. – 137 с.
ISBN 978-966-657-626-5

У монографії подані сучасні уявлення про морфологічні особливості тканин пародонта при запаленні. Паралельно досліджені імуногістохімічні особливості різних типів епулісів. Запропоновані критерії диференціальної діагностики остеобластокластоми та гігантоклітинного епулісу.

Монографія розрахована на лікарів-стоматологів і патологоанатомів та всіх, хто цікавиться цією проблемою.

УДК 616.314.17-008.1
ББК 56.612.1

ISBN 978-966-657-626-5

Зміст

С.

Передмова……………………………………………………………………4
Вступ…………………………………………………………………………5
Сучасний стан захворювань пародонта у Північних регіонах України…...13
Генетичні аспекти розвитку зуба і тканини пародонта……………………17
Патологічна анатомія запальних захворювань пародонта…………………30
Гінгівіт………………………………………………………………………32
Пародонтити…………………………………………………………………..45
Епуліси…………………………………………………………………...79
Фіброзний епуліс………………………………………………………...80
Ангіоматозний епуліс……………………………………………………...84
Гігантоклітинний епуліс…………………………………………………...86
Практичне значення…………………………………………………………..99
Висновки……………………………………………………………………..103
Додаток А…………………………………………………………………106

Передмова

Монографія присвячена важливій проблемі практичної стоматології та паталогічної анатомії – запальним захворюванням пародонта.

У монографії висвітлено на новому рівні патогенез та морфогенез перебігу пародонтиту. Запропоноване нове пояснення молекулярно-генетичних зв'язків між ензимами у різних видах епулісів. Знання патогенетичних ланок запалення та особливостей їх клінічного перебігу необхідне стоматологові для здійснення подальшого прогнозування та вибору сучасного ортопедичного, ортодонтичного, хірургічного чи терапевтичного лікування пародонтитів. Стоматологами по-сучасному аналізуються дані щодо особливостей запалення, тому для діагностики й прогнозу необхідна співпраця між стоматологами та патологоанатомами.

На сьогодні запалення пародонта діагностується на підставі клінічної картини. Поряд із цим знання патоморфологічних змін у тканинах пародонта за різних типів епулісів буде сприяти точнішій верифікації діагнозу лікарями-стоматологами.

Монографія ґрунтується на власних дослідженнях та літературних даних.

Вступ

Роль захворювань пародонта як загальномедичної проблеми пояснюється такими чинниками: по-перше, значним поширенням цієї патології у світі; по-друге, втратою великої кількості зубів при цих захворюваннях; по-третє, появою вогнищ хронічної інфекції у зв'язку з виникненням патологічного утворення – зубоясенного кармана та зниженням реактивності організму [1]. За даними ВООЗ, основну проблему в пародонтології становлять запальні ураження пародонта [2]. При цьому виділяють гінгівіти (катаральний, гіпертрофічний, виразковий, атрофічний, десквамативний) і маргінальні періодонтити, коли клінічно та рентгенологічно визначаються патологічний зубоясенний карман та деструкція кісткової тканини.

Деякі автори вважають, що первинний запальний процес у яснах є пусковим із подальшим розвитком патологічного ясенного кармана та вторинної резорбції альвеол [3]. Інші автори вважають, що в окремих випадках пародонтит починається в яснах у вигляді хронічного запалення з подальшим розсмоктуванням кісткової тканини в альвеолярному паростку [4].

Заслуговує на увагу те, що виникнення та погіршення перебігу пародонтиту, як правило, поєднуються із несприятливими факторами, які впливають на цілісний організм [5]. До цих факторів належать перенесені інфекційно -токсичні захворювання [6], порушення трофіки та обміну речовин [7, 8], зміни нейрогуморальної регуляції [9], віковий фактор [10], порушення вітамінного балансу в організмі [7], імунні порушення [11] та ін.

Ряд авторів пов'язує пародонтит зі склерозом артеріальної системи пародонта: порушенням трофіки пародонта у зв'язку з недостатністю його кровопостачання з наявними склерозованими артеріями та звуженим їх просвітом, що призводить до зниження місцевого імунітету [12]. Зміни кінцевого судинного апарату пародонта обумовлені алергічними змінами судин пар одонта [13]. Дистрофічні процеси в організмі призводять передусім до появи пародонтальних карманів, резорбції кісткової тканини альвеолярного паростка

[14]. Істотна роль відводиться неврогенному фактору в патогенезі пародонтиту [15].

Розуміння механізмів порушень у пародонті на молекулярному рівні дає можливість розробити оптимальні заходи щодо їх діагностики, профілактики та лікування.

Одними з основних етіологічних чинників розвитку патології пародонта є бактерії [16], а також їх екзо- та ендотоксини [17, 18], що опосередковано й безпосередньо спричиняють такі зміни: збільшення проникливості капілярів, яка зумовлює ексудативні прояви запального процесу; порушення лізосомальних мембран із виходом у клітину та за її межі лізосомальних гідролаз [19], здатних пошкоджувати різні клітинні й тканинні компоненти [20]; стимулювання вироблення макроергічних сполук у процесах окисного та гліколітичного фосфорилювання [21]; стимулювання синтезу медіаторів запалення [22]; модифікацію субстрату запалення [23]; зміну молекулярної конфігурації тканинних компонентів [24]; цитотоксичну дію [25], що призводить до стимулювання проліферативної фази запалення та посилення запального процесу.

Спеціалізована терапія при пародонтитах спрямована на подолання наслідків порушень та втрат зубоепітеліального з'єднання [26], ліквідацію зубоясенних нашарувань із великою кількістю мікроорганізмів, зменшення розростання грануляційної тканини та ін. [27]. Морфофункціональні зміни у пародонті при цьому є основними чинниками резорбції кісткової тканини і, як наслідок, патологічного перенавантаження зубів, що спричиняє з часом їх повну елімінацію [28]. Це зумовлює втрату зубів із віком та великий відсоток втрати зубів у молодих людей. Тому зміни у пародонті вимагають значних витрат на лікування та протезування зубів.

Успіх лікування при пародонтитах залежить від своєчасності й тривалості терапії. При цьому перед лікарем-стоматологом постають такі завдання у лікувальній тактиці: 1) дія на етіологічний чинник [29]; 2) вплив на ланки патогенезу – запальні, судинні, імунні та інші порушення [30]; 3) відновлення або заміщення структур і функцій пародонта [31]; 4) дія на організм у цілому [32].

У контексті зазначеного особливу увагу дослідників при запальних процесах пародонта привертають процеси перебудови тканин, насамперед в епітелії та кістковій тканині.

Дослідженнями останніх років доведено, що ряд ДНК- репаративних систем являє собою ієрархічну структуру, яка частково елімінує вплив несприятливих факторів. Тканини пародонта в цьому сенсі не є винятком [33]. ДНК-репаративні системи зумовлюють функціональну та фізіологічну цілісність геному ДНК-вмісних органел клітин від продуктів із сторонньою генетичною інформацією, ендогенних перекисних та алкілувальних продуктів [34]. У більш широкому розумінні ДНК-репаративні системи реалізують захист дво- та одноланцюгової ниток ДНК від пошкоджувальних речовин екзогенного та ендогенного походження [36].

Вивченню прямої та непрямої алкілувальної дії бактеріальних токсинів на тканини пародонта людини та експериментальних тварин присвячено поодинокі праці зарубіжних авторів, у більшості яких доводиться негативний вплив цієї дії на органи та системи організму. M. Esteller [36] зазначає, що клітини з високим ступенем метаболізму мають більш високий рівень репаративних ензимів, наприклад MGMT (O6- methylguanine-DNA methyltransferase) та MMR (DNA mismatch repair). MGMT відіграє важливу роль у репаративних процесах. Це може бути пов’язано з великою швидкістю окисного гліколізу та активністю нітроксидсинтетази [37]. Ці реакції, у свою чергу, призводять до зростання рівнів таких ендогенних алкіляторів, як продукти перекисного окиснювання жирів, нітрозоамінів та амінокислот [38]. Значна кількість синтезу ендогенних алкіляторів у клітинах пухлин через велику швидкість біохімічних реакцій посилює експресію відповідних захисних ензимів (MMR, MGMT) за принципом зворотної відповіді. До основних механізмів токсичної дії алкілувальних сполук необхідно віднести їх безпосередній та опосередкований вплив на ДНК, що відбувається за рахунок алкілування ферментних систем і пошкодження генетичного апарату клітини [39].

Вирішення вищезазначених проблем спрямоване не лише на одержання відповіді на ряд теоретичних питань стосовно алкілування клітин тканин пародонта, й на запровадження нового наукового напрямку в стоматології, який має на меті дослідити основи розвитку захворювань пародонта з позицій патологічної анатомії, молекулярної генетики та патологічної фізіології.

Список літератури

1. Елькова Н. Л. Оценка состояния тканей пародонта у пациентов с нестабильной стенокардией / Н. Л. Елькова, А. А. Зубкова, В. В. Зубков // Человек и здоровье. – 2013. – № 1. – С. 57–61.
2. Petersen Poul Erik. Strengthening the Prevention of Periodontal Disease: The WHO Approach / Poul Erik Petersen, Hiroshi Ogawa // J. Periodontol. – 2005. – Vol. 76. – P. 2187–2193.
3. Factors affecting human supragingival biofilm composition. I. Plaque mass / A. D. Haffajee, R. P. Teles, M. R. Patel et al. // J. Periodontal. – 2008. – № 7. – P. 63–70.
4. Этиопатогенетические аспекты хронического генерализованного пародонтита / М. Н. Пузин, Е. С. Кипарисова, В. Д. Вагнер [и др.] // Российский стоматологический журнал. – 2010. – № 1. – С. 29–35.
5. Онтогенетическая оценка общих механизмов устойчивости организма к патологии зубочелюстной системы / В. В. Колпаков, А. В. Брагин, Л. Н. Евдокимова [и др.] // Российский стоматологический журнал. – 2008. – № 5. – С. 23–26.
6. Darveau R. P. Porphyromonas gingivalis neutrophil manipulation: risk. factor for periodontitis? / R. P. Darveau // Trends Microbiol. – 2014. – Vol. 22, № 8. – P. 428–429.

7. Cyril O. I. Nutrition and oral health in Africa / O. I. Cyril, R. S. Enwonwu, P. D. Christine // International Dental Journal. – 2004. – Vol. 54, – № 6. – P. 344–351.
8. Курякина Н. В. Изменение показателей общего иммунитета в различные сроки после курса комплексного лечения у больных пародонтитом на фоне сахарного диабета / Н. В. Курякина, О. А. Алексеева // Пародонтология. – 2000. – № 1. – С. 22–25.
9. Гинятулин И. И. Применение протоколов лечения заболеваний пародонта с учётом их психоэмоционального состояния / И. И. Гинятулин, С. Л. Блашков, Н. И. Макарова // Неврологический вестник. – 2009. – Т. 16. – В 3. – С. 53–57.
10. Risk factors for periodontal disease progression among elderly people. / H. Ogawa, A. Yoshihara, T. Hirotomi [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2002. – № 29. – P. 592–597.
11. Иммуноцитохимическое исследование интерлейкина 1β в эпителиоцитах десен при хроническом генерализованном пародонтите / А. И. Парфёнов, Я. Я. Мазурова, Ю. А. Грухин [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2012. – Т. 11, № 1. – С. 101–104.
12. Periodontal disease is associated with renal insufficiency in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study / A.V. Kshirsagar, K. L. Moss, J. R. Elter [et al.] // Am. J. Kidney Dis. – 2005. – № 45 (4) – P. 650–657.
13. Kinane D. F. Clinical, pathological and immunological aspects of periodontal disease / D. F. Kinane, D. F. Lappin // Acta Odontol. Scand. – 2001. – № 59 (3). – P. 154–160.
14. Hansson G. K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease / G. K. Hansson // N. Engl. J. Med. – 2005. – № 352 (16) – P. 1685–1695.
15. Hashim N. T. Periodontal health status of a group of (non- institutionalized) mentally disabled children in khartoum state / N. T. Hashim, B. Gobara // J Oral Health. Comm. Dent. – 2012. – № 6 (1). – P. 10–13.

16. Clinical and microbiologic effects of subgingival controlled-release delivery of chlorhexidine chip in the treatment of periodontitis: a multicenter study / M. D’. Paolantonio, M. Angelo, R. F. Grassi [et al.] // J. Periodontol. – 2008. – № 79 (2). – P. 271–282.
17. Diabetes prolongs the inflammatory response to a bacterial stimulus through cytokine dysregulation / G. Naguib, H. Al-Mashat, T. Desta [et al.] // J. Invest Dermatol. – 2004. – № 123. – P. 87–92.
18. Systemic release of endotoxins induced by gentle mastication: Association with periodontitis severity / S. O. Geerts, M. Nys, P. De Mol [et al.] // J Periodontol. – 2002. – № 73. – P. 73–78.
19. Crosslinking by advanced glycation end products increases the stiffness of the collagen network in human articular cartilage: A possible mechanism through which age is a risk factor for osteoarthritis / N. Verzijl, J. DeGroot, Z. C. Ben [et al.] // Arthritis Rheum. – 2002. – № 46. – P. 114–123.
20. Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level / B. Noack, R. J. Genco, M. Trevisan [et al.] // J. Periodontol. – 2001. – № 72. – P. 1221–1227.
21. Gingival crevicular fluid levels of interleukin-1b and glycemic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes / S. P. Engebretson, J. Hey-Hadavi, F. J. Ehrhardt [et al.] //J. Periodontol. – 2004. – № 75. – P. 1203– 1208.
22. Inflammatory mediator response as a potential risk marker for periodontal diseases in insulin-dependent diabetes mellitus patients / G. E. Salvi, B. Yalda, J. G. Collins [et al.] // J. Periodontol. – 1997. – № 68. – P. 127–135.
23. Stress and the periodontal diseases: effects of catecholamines on the growth of periodontal bacteria in vitro / A. Roberts, J. B. Matthews, S. S. Socransky [et al.] // Oral Microbiol Immunol. – 2002. – № 17 (5). – P. 296–303.

24. Osteoporosis in the Cohen diabetic rat: Correlation between histomorphometric changes in bone and microangiopathy / G. Amir, E. Rosenmann, Y. Sherman [et al.] // Lab. Invest. – 2002. – № 82. – P. 1399–1405.
25. Diabetes causes decreased osteoclastogenesis, reduced bone formation, and enhanced apoptosis of osteoblastic cells in bacteria stimulated bone loss / H. He, R. Liu, T. Desta [et al.] // Endocrinology. – 2004. – № 145. – P. 447–452.
26. Full-mouth disinfection and systemic antimicro-bial therapy in generalized aggressive periodontitis: A randomized, placebo-controlled trial / M. Aimetti, F. Romano, N. Guzzi [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2012. – № 39. – P. 284–294.
27. Amoxicillin and metronidazole as an adjunct to full-mouth scaling and root planing of chronic periodon-titis / N. Cionca, C. Giannopoulou, G. Ugolotti, [et al.] // Journal of Periodontology. – 2009. – № 80. – P. 364–371.
28. Kinney J. S. Oral fluid based biomarkers of alveolar bone loss in periodontitis / J. S. Kinney, C. A. Ramseier, W. V. Giannobile // Ann N. Y. Acad Sci. – 2007. – № 1098. – P. 230–251.
29. Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction / A. J. van Winkelhoff, B. G. Loos, W. A. van der Reijden [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2002. – № 29 (11). – P. 1023–1031.
30. Periodontal treatment by Arestin and its effects on glycemic control in type 1 diabetes patients / U. Skaleric, R. Schara, M. Medvescek [et al.] // J. Int. Acad. Periodontol. – 2004. – № 6 (4). – P. 160–165.
31. Павленко О. В. Лікувально-реабілітаційні заходиу хворих на генералізований пародонтит / О. В. Павленко, І. П. Мазур // Новини стоматології. – 2003. – № 2. – С. 4–8.
32. Experimental gingivitis in type 1 diabetics: A controlled clinical and microbiological study / G. E. Salvi, M. Kandylaki, A. Troendle [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2005. – № 32. – P. 310–316.

33. Особенности репаративного синтеза ДНК у больных раком легких / Е. В. Неруш, В. В. Новицкий, Н. В. Севостьянова [и др.] // Бюллетень СО РАМН – 2005. – № 2 (116). – С. 79–81.
34. Inactivation of a DNA Methylation Pathway in Maize Reproductive Organs Results in Apomixis-Like Phenotypes / G. A. Marcelina, M. Caroline, Le. Olivier [et al.] // The Plant Cell. – 2010. – Vol. 22. – P. 3249–3267.
35. Quantification and digestion of testicular DNA in rats under the influence of acrylamide / N. U. Lakshmi, B. Suman, B. M. Meena [et al.] // Biotechnol. Bioinf. Bioeng. – 2012. – № 2 (1). – P. 584–590.
36. Inactivation of the DNA-repair gene*MGMT* and the clinical responses of gliomas to alkylating agents / M. Esteller, J. Garcia-Foncillas, E. Andion [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2000. – № 19. – P. 1350–1354.
37. Nadia G. Z. Chronic exposure to MDMA (ecstasy)induces DNA damage, impairs functional antioxidant cellular defenses, enhances the lipid peroxidation process and alters testes histopathology in male rat / G. Z. Nadia, L. A. Kawy // The Egyptian Journal of Hospital Medicine. – 2013. – Vol. 51. – P. 422– 433.
38. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease / M. S. Cooke, D. M. Evans, M. Dizdaroglu [et al.] // The FASEB Journal. – 2003. – № 17. – P. 1195–1214.
39. Assessment of DNA repair mechanisms to determine the susceptibility of non - small cell lung cancer to alkylating agents / I. F. Emery, C. Battelli, L. Cai [et al.] // J. Cancer Sci. Ther. – 2011. – № 3. – P. 092–095.

Сучасний стан захворювань пародонта у Північних регіонах України

Відповідно до статті 19 Закону України «Про доступ до публічної інформації» ми проаналізували інформацію обласних інформаційно-аналітичних центрів медичної статистики та обласних стоматологічних поліклінік щодо результатів статистичного опрацювання захворюваності на пародонтити, гінгівіти та різні види епулісів.

Ми вивчили динаміку захворюваності пародонта серед населення України (код МКХ-10 К05.0, К05.1, К05.2, К05.3, К05.4, К05.5, К05.6). Із 1990 р. було охоплено всю територію України єдиною інформаційною системою збору даних національного канцер-реєстру та національною медичною статистичною системою.

Джерелом інформації щодо поширення хвороб пародонта серед населення (зареєстровано хвороб «усього») та захворюваності (зареєстровано захворювань уперше в житті) є звітна статистична форма 12 «Звіт про захворювання, зареєстровані у хворих, які проживають у районі обслуговування лікувально-профілактичного закладу».

Ця форма затверджена Наказом МОЗ України від 10.07.2007 року № 378 «Про затвердження форм звітності з питань охорони здоров'я та інструкцій щодо їх заповнення» із змінами та доповненнями, внесеними Наказом МОЗ України від 17.06.2013 року № 511 «Про затвердження змін до Наказу МОЗ України від 10.07.2007 року № 378».

У таблицях 1 000, 2 000, 3 000 зазначеної форми МОЗ України від 10.07.2007 року № 378 інформація про захворюваність населення на пародонтити, гінгівіти, епуліси (ангіоматозний, фіброзний, гігантоклітинний) не передбачена.

Раніше для реєстрації окремих захворювань (К05.0.1, К09 – К14 – «Гінгівіт та інші хвороби ротової порожнини, слинних залоз та щелеп») були передбачені форми: № 071/о, № 071-1/о, № 071-3/о «Зведена відомість обліку захворювань та причин смерті у даному лікувальному закладі» (квартальні), затверджені

Наказом МОЗ України від 01.12.2004 року № 588 «Про затвердження облікових статистичних форм». На сьогодні ці форми скорочені на рівні первинної медичної допомоги Наказом МОЗ України від 28.03.2012 року № 214 «Про скорочення форм первинної облікової документації у закладах охорони здоров'я первинного рівня надання медичної допомоги».

За результатами запитів до обласних інформаційно-аналітичних центрів медичної статистики встановлено, що лише Чернігівська, Харківська та Сумська області здійснюють контроль щодо захворювання пародонта серед населення. Чернігівська ОДА розпочала програмний комплекс «Поліклініка», яким здійснюється моніторинг захворюваності у Чернігівській області (Рішенням обласної ради від 21 грудня 2007).

Установлено, що захворюваність пародонта залишається практично незмінною упродовж останніх років (близько (0,27 ± 0,02) та (0,23 ± 0,01) випадка на 100 тис. населення у Чернігівській та Сумській областях). Проте запальні процеси пародонта більш поширені у Харківській області – (0,37 ± 0,04) на 100 тис. населення (із 2008 до 2015 р.). Певну роль у підвищенні рівня запальних процесів пародонта могли відіграти соціальні проблеми Харківщини.

Не виключено також, що за цей період відбувалося поступове покращання якості реєстрації захворювань пародонта в системі статистичного обліку Харківщини. Проте за останні роки ми також відзначаємо пік збільшення хвороб пародонта у Чернігівській та Сумській областях.

Пік захворюваності у 2011 р. становив 0,445 на 100 тис. населення у Харківській області. У Чернігівській та Сумській областях також спостерігалося підвищення захворюваності до 0,3 та 0,255 на 100 тис. відповідно. У Сумській області взагалі не відзначається значного збільшення захворюваності пародонта за весь досліджуваний період (рис. 1).

Аналіз статистичних баз даних Сумської області засвідчив, що 62 % випадків захворювання на пародонтити та епуліси виявлено в результаті самостійного звернення пацієнтів до лікувальних закладів і лише 19% – в оглядових кабінетах, решта 19 % – при інших видах профілактичних оглядів.

Зазначимо, що під час вивчення стану реєстрації захворювань пародонта (К05.0, К05.1, К05.2, К05.3, К05.4, К05.5, К05.6) в Україні ці нозологічні форми не враховуються.

Рисунок 1 – Захворюваність пародонта на Чернігівщині, Сумщині та Харківщині порівняно з Німеччиною

Разом із тим необхідно відзначити, що останнім часом у розвинених країнах рівень захворюваності на пародонтити значно перевищує аналогічні показники у нерозвинених країнах. Наприклад, за даними «UK Incidence Statistics» (Великобританія), у 2007 р. було виявлено 25 033 випадки різних типів епулісів.

Аналіз нормальності свідчить, що гіпотеза про нормальність вибірок Харківської області та Німеччини відхилена ($X_{сер}$ = 0,27 %, S = 0,030 %, $X_{сер}$ = 0,33 %, S = 0,004 % відповідно), але підтвердилася гіпотеза про нормальність розподілу вибірок Чернігівської та Сумської областей ($X_{сер}$ = 0,19 %, S = 0,47 %, $X_{сер}$= 0,15 %, S = 0,26 %).

Тому ми порівнюємо дані Чернігівської та Сумської областей, а дані Харківської області – з даними Німеччини.

Результати захворюваності у Харківській області та Німеччині порівнювали з використанням параметричних критеріїв статистики – або критерію Стьюдента (t-критерій Стьюдента 2,26 при $P = 0{,}019$).

Захворюваність пародонта у населення Чернігівської та Сумської областей порівнювали з використанням критерію Спірмена (критерій Спірмена 0,77; $P = 0{,}011$).

Генетичні аспекти розвитку зуба і тканин пародонта

Зуб складається з чотирьох основних тканин: емалі, цемента та пульпи, яка оточеної дентином [21].

Дентин кореня зуба покритий цементом і знаходиться в альвеолах, оточених тканинним комплексом (пародонтом), що складається зі зв’язкового апарату періодонта, маргінальної частини ясен [3]. Розвиток зуба з мезодерми та ектодерми починається із 6-го тижня ембріогенезу [2]. Одонтогенез у людини і дифіодонтних тварин проходить декілька етапів: зубна пластинка, зубна брунька, шапочка та дзвіночок [4]. Комплекс неодноразово повторюваних сигналів факторів росту зумовлює утворення, розміщення та форму зубів [6].

Таблиця 1 – Гени та поліпептиди, що впливають на розвиток зубів

Ген	Значення
FGF	Fibroblast growth factors
BMP	Bone morphogenetic proteins
SHH	Sonic hedgehog homolog
WNT	Signaling network of proteins
Pitx2	Paired-like homeodomain
SMAD	Mothers against decapentaplegic homolog
TGF	Transforming growth factor
ACTIVIN	Activin, inhibin
BARX	Homeobox 1 (HGNC Symbol)
DLX	Homeobox transcription factor gene
MSX	Myc-associated factor X
PAX	Paired box gene
LHX	Homeobox family which contains the LIM domain
GFI	Zinc finger gene
GLI	Transcription factors activate/inhibit
Sp3	Related genes encode transcription factors
LHM	Anti-NG2 antibody
LEF	Multinucleocapsid polyhedrosis
PDGF	Platelet -derived growth factor
P21	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1A

На стадії зубної пластинки епітеліальні клітини первинної порожнини рота активують підлеглу мезенхіму різними білковими факторами. Першими морфологічними ознаками розвитку зуба є утворення зубної пластинки та потовщення ротового епітелію. Вільний край потовщення утворює два відростки, що проникають у підлеглу мезенхіму: зовнішній – вестибулярна пластинка та внутрішній – зубна пластинка. Підлегла мезенхіма утворена з клітин, які мігрували з нервового гребеня. Відомо, що сегментна специфічність ромдомерів нервового гребеня детермінована так званим HOX-геном. Клітини нервового гребеня мігрують у першу бранхіальну дугу, вони детерміновані рядом інших генів (табл. 1).

У розвитку зуба людини значну роль відіграють білкові фактори росту: фібробластичний фактор росту (FGF), група протеїнів морфогенезу кісток (BMPs), поліпептид сигнальна голка (SHH) та група сигнальних білків WNT [26, 39, 41, 56]. Один із ключових генів транскрипції Pitx2 ініціюється з початку одонтогенезу та продовжує свою активність у період усього ембріогенезу. Pitx2 залишається активним у похідних ектодерми та мезодерми і відіграє ключову роль у положенні кишківника, серця та симетрії органів [38].

Фібробластичний фактор росту (FGF) був відкритий у1973 році Армані [11]. На цей час виділяють дві його фракції – кислотну та основну (acidic fibroblast growth factor – FGF1 та basic fibroblast growth factor – FGF2) [10]. Група протеїнів фібробластичного фактора росту має дуже велику варіабельність впливу: морфогенетичну, регуляторну та ендокринну. Найважливіші функції фібробластичного фактора росту – індукція мезенхіми та зрілої тканини, проліферація епітеліальних клітин первинної ротової порожнини та їх фізична організація [14, 16, 9]. Протеїни морфогенезу кісток (BMPs) представлені групою білків, які кодуються в різних хромосомах. Сучасні дослідники виділяють близько 15 видів BMP (BMP1 – BMP15). Особливо впливає на формування зубів та альвеолярного паростка належить BMP4, який кодується в 14-й хромосомі 14q22-q23. BMP4 в період ембріогенезу інтенсивно впливає на хорду та орієнтацію ембріона [52, 35]. Незамінна біологічна роль групи протеїнів BMPs була представлена Marshall R, який дослідив мінералізацію зневапненої кістки, імплантованої у м'яз кролика [34, 29]. Білок морфогенезу кістки взаємодіє на поверхні клітин із специфічним рецептором BMPRs із подальшою транскрипцією та передаванням сигналу протеїнам групи SMADs, який активує ген TGF-P [12].

Протеїн SHH синтезується на ранніх етапах ембріогенезу та впливає на формування фолікулів зубів [45] і локалізований у 7q12-хромосомі. Значна кількість протеїну в ембріогенезі знаходиться у вентральній частині невральної трубки та вентральних сомітах. У зазі дефекту білка в період ембріогенезу виникають голопрозенефалія та VACTERL-синдром, що характеризується дефектами хребта, анальними атрезіями, трахіоезофагальними фістулами з езофагальними атрезіями, нирковою дисплазією, кардіальними аномаліями та розчленованістю кінцівок. При незначних дефектах цього білка виникає полідактилия [27].

Група сигнальних білків WNT, що синтезуються під час ембріогенезу та в ряді пухлин [53], активують різні шляхи диференціювання та орієнтації клітин у просторі [32, 36]. Сигнальні білки групи WNT є антагоністами білка SHH та регулюють активність клітин у дорзальній частині нервової трубки. На сьогодні залишається не вивченим питання взаємодії білків SHH, WNTs та BMPs у формуванні зубів. Існує припущення, що білки SHH, WNTs синтезуються першими та передають потім функцію формування білка BMP4 кістковій тканині альвеолярного паростка [50]. Ген Pitx2 відіграє ключову інформаційну функцію у формуванні зубів, очного яблука та розміщенні внутрішніх органів, кодує RIEG/PITX2-протеїни. Ці протеїни є факторами транскрипції гена проклогелізилтрансферази. Мутації, що виникають у гені Pitx2, призводять до виникнення синдромів Аксенфельда–Рігера (ARS) та очнощелепної дисплазії (GDS) [31].

Синдром Аксенфельда–Рігера характеризується наявністю глаукоми в 75 % випадків та верхньощелепної мікрогнатії з різним розміщенням неправильно сформованих зубів. Очнощелепна дисплазія має такі самі ознаки, як і при синдромі Аксенфельда–Рігера, але з меншим ступенем прояву [25].

Встановлено, що інформація для ідентифікації та формування зубів знаходиться в мезенхімі, яка мігрує з нервового гребеня середнього мозку в першу бранхіальну дугу й не експресується геном Hox. Експресія наступних генів та факторів росту ACTIVIN, BMP4 і транскрипційних факторів Bara1, Dlx1, Dlx2, Gfi1, Gfi2, Gfi3, Lhx6, Lhx7, Msx1, Msx2, Pax9 у вигляді специфічних просторових патернів призводить до утворення різних морфологічних груп зубів. Деякі автори [1] припускають наявність одонтогенного гомеобоксного коду, який може детермінувати ідентичність кожного зуба. ACTIVIN-комплекс протеїнів і спрямованою біологічною функцією розпочинає клітинну проліферацію, диференціацію та апоптоз [7]. Деякі дослідники виділяють ряд додаткових функцій цих протеїнів – метаболічну, гемостатичну, імунну, репаративну [46]. Відомо, що ACTIVIN складається з двох субодиниць – Pa, Pв [55, 8]. Під час амелогенезу в підлеглій мезенхімі наявні фактори транскрипції з доменом за типом «цинкових пальців» (zinc finger) – Gfi1, Gfi2, Gfi3, – закодованих у 8-й хромосомі. Ген Gfi1 кодує протеїн 55 кДа, який під час амелогенезу контролює ангіогенез та гальмує промоторні гени. Протеїн у своїй структурі має шість пальцевих доменів [47]. Мутації цього гена викликають ідіопатичну нейтропенію дорослих та схильність до інфекційних хвороб [20].

Gfi2-ген досліджений недостатньо. Відомо, що під час ембріогенезу кодований у ньому протеїн містить фосфатні залишки та інгібує функцію білка GEI-4. Протеїн, кодований Gfi-3 - геном, також недостатньо вивчений, він одержав назву GEI-4.

Група генів «цинкових пальців» – Gli1, Gli2, Gli3 – кодує протеїни, що запускають проліферацію мезенхімальних клітин [42]. Важливим є та роль, яка за допомогою кодованих протеїнів генів Gli1, Gli2, Gli3 кодує шлях вростання епітеліальних клітин первинної ротової порожнини в підлеглу мезенхіму [15]. Можна припустити ключову роль цих генів у формуванні форми, розмірів та груп зубів. Мутації в гені Gli3, який знаходиться у 7-й хромосомі, призводять до розвитку цефалополісиндактелії Грейга, що характеризується аномаліями черепа, щелеп та рук (зрощені або додаткові пальці) [48].

Sp3 – «ген цинкових пальців» кодує цинковмісний ДНК-домен та декілька транскрипційних доменів, що пригнічують функцію багатьох генів [54]. Краніофаціальна мезенхіма зв’язана з геном Barx1, який є транскрипційним фактором. При порушеннях у цьому гені виникає краніофаціальна дисплазія нижньої третини обличчя [19]. Особливо важлива функція гена Barx1, що проявляється у формуванні молярів [13]. Гомеобоксні гени та продукти їх діяльності – транскрипційні фактори осьової диференціації ембріона людини – беруть участь у морфогенезі зубів. Мутації в гомеобоксних генах у людини не спостерігаються. Ембріони з цими мутаціями нежиттєздатні та гинуть до 6 –8-го тижня [1]. Група гомеобоксних генів Dlx(s) складається із 6 різних генів, в їх одонтогенезі активно беруть участь Dlx1 та Dlx2. Гени Dlx1 та Dlx2 контролюють розвиток нервових волокон в альвеолярній кістці та майбутній пульповій камері. Особливо активно гени формують ГАМергічну систему [18, 28, 40].

Відомо, що в одонтогенезі важливу роль відіграють гени групи гомеобоксів LHM, серед яких основне значення належить LHM1 та LHM2. Поліпептиди, кодовані в генах групи LHM, містять велику кількість цистеїну й збагачені цинком. Кодований протеїн виконує багато функцій та запускає досить складний процес диференціації й розвитку нервових волокон та лімфатичних судин [30, 47]. Експресія при порушенні генів не свідчить за чи проти цієї моделі. За наявності дефектів Msx1-гена у мишей не развиваються різці, а розвиток молярів припиняється на стадії пізньої бруньки. Крім того, виявлено, що Msx1- та Msx2-гени формують абдомінальну та вертебральну стінки ембріона [51]. Дослідження деяких авторів [44] довели стимулювальний вплив гена Msx1 на протеїн BMP.

Формування молярів хребетних експресується генами Dlx1 та Dlx2, і при їх порушенні виникає відсутність молярів. Необхідно зазначити, що при порушеннях генів мезенхіма втрачає одонтогенний потенціал і внаслідок утрати нормальної детермінації вона стає хондрогенною. Dlx1- та Dlx2-гени експресуються в мезенхімі максилярної та мандибулярної щелеп, можлива компенсація їх діяльності іншими генами цього сімейства (Dlx-5, -6, -3, -7). Деякі дослідники [39] за допомогою експресійного індукування та інгібування сигналів BMP4 в дистальній мезенхімі трансформували початкову дистальну експансію експресії Barx1, унаслідок чого виникло перетворення молярів на різці. Окремі дослідники [13] з упевненістю стверджують, що експресія гена Barx1 перебуває під основним контролем епітеліальних сигналів, а інші автори [5] вважають, що він детермінований у клітинах нервового гребеня. Підсилювальний фактор лімфогенезу (LEF-1) входить до складу транскрипційних факторів і виконує гальмівну функцію експресії гена Wnt в одонтогенезі. Pax9 належить до групи спарених генів, які кодують поліпептидні послідовності зі 180 амінокислот, а
мутації в цій групі генів призводять до розвитку аномалій хребта, очей та синтезу пігменту [37]. Pax9 відповідає за розвиток зубів та інших скелетних елементів черепа і відсутність зубів мудрості в людській популяції [17]. Фактори росту групи PDGF представлені чотирма поліпептидами – A, B, C, D. Основні функції групи PDGF – клітинна диференціація, проліферація та ріст судин тканин пародонта [23]. Трансформуючий фактор росту TGF-P є одним із факторів антипроліферації епітеліальних клітин емалевого органа [22].

Внутрішньоклітинний білок P21 є інгібітором циклінзалежної кінази і відіграє критичну роль у клітиній відповіді на ушкодження ДНК. Рівень цього білка підвищений у диференційованих клітинах, які перебувають у стані спокою, а регуляцію стадії клітинного циклу забезпечує G1 [24, 49]. Рівень P21 досягає максимуму у фолікулах зубів на 8-му тижні ембріонального періоду.

М. П. Бочков [1] відносить 8-й тиждень ембріонального періоду до кінцевого терміну тератогенної термінації фолікулів зубів. Аналізуючи вищезазначене, можна припустити, що експресія гена P21 виконує завершальну функцію у формуванні фолікулів зубів. Сплайсингові мутації в генах не приводять до загального блокування синтезу білка, а тому деякі хвороби мають м’який за клінічними проявами характер. Генетичне середовище для патологічного гена завжди індивідуальне, тому виникають широкі можливості для прояву патологічного гена у різних середовищах.

Таким чином, нормальний розвиток зубів і тканин пародонта забезпечує ціла низка генів та поліпептидів, порушення експресії яких зумовлює формування патології зубощелепної системи. Тому визначення ступеня експресії поліпептидів, поліморфізму генів необхідне під час дослідження морфогенезу тканин пародонта, зубів і щелеп.

Список літератури

1. Бочков Н. П. Клиническая генетика / Н. П. Бочков. – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 448 с.

2. Быков В. Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека / В. Л. Быков. – СПб. : Специальная литература, 1996. –162 с.

3. Гайворовский И. В. Анатомия зубов человека / И. В. Гайворовский, Т. Б. Петрова. – СПб. : ЭЛБИ, 2005. – 55 с.

4. Геманов В. В. Развитие и строение органов ротовой полости и зубов В. В. Геманов, Э. Н. Лаврова, Н. И. Филин. – М. : ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2002. – 256 с.

5. Костиленко Ю. П. Структура эмали и проблема кариеса / Ю. П. Костиленко, И. В. Бойко. – Полтава : ТОВ НПП Укрпромторгсервис 2007. – 55 с.

6. A periodic pattern generator for dental diversity / Gareth J. Fraser, Ryan F. Bloomquist [et al.] // BMC Biology. – 2008. – № 6 – P. 32–39.

7. Activin signaling and its role in regulation of cell proliferation, apoptosis, and carcinogenesis / Y. G. Chen, Q. Wang, S. L. Lin [et al.] // Exp. Biol. Med. (Maywood). – 2006. – Vol. 231 (5) – P. 534–544.

8. Activins and activin antagonists in hepatocellular carcinoma / A. Deli, E. Kreidl, S. Santifaller [et al.] // World J. Gastroenterol. –- 2008. – Vol. 14 (11). – P. 699–709.

9. Angiogenic synergism, vascular stability and improvement of hind -limb ischemia by a combination of PDGF-BB and FGF-2 / R. Cao, E. Brakenhielm, R. Pawliuk [et al.] // Nature Med. – 2003. – Vol. 9 (5). – P. 4–13.

10. Arese M. Nuclear activities of basic fibroblast growth factor: potentiation of low-serum growth mediated by natural or chimeric nuclear localization signals / M. Arese, Y. Chen // Mol. Biol. Cell. – 1999. – Vol. 10 (5). – P. 29–44.

11. Armelin H. A. Pituitary extracts and steroid hormones in the control of 3T3 cell growth / H. A. Armelin // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 1973. – Vol. 70 (9). – P. 2–6.

12. Attisano L. Signal transduction by the TGF-beta superfamily / L Attisano, J. L. Wrana // Science. – 2002. – Vol. 296 (5573). – P. 16–46.

13. Barx1, a new mouse homeo domain transcription factor expressed in cranio -facial ectomesenchyme and the stomach / J. P. Tissier-Seta. L. Mucchielli, M Mark [et al.] // Mech. Dev. – 1995. – Vol. 51. – P. 3–15.

14. Bottcher R. T. Fibroblast growth factor signaling during early vertebrate development / R. T. Bottcher, C. Niehrs // Endocr. – 2005. – Rev. 26 (1). – P. 63–77.

15. Callahan C. A. MIM/BEG4, a Sonic hedgehog-responsive gene that potentiates Gli-dependent transcription / C. A. Callahan // Genes. Dev. – 2004. – Vol. 18 – (22). – P. 4–9.

16. Characterization of a novel member of the FGF family, XFGF-20, in Xenopus laevis / C. Koga, N. Adati, K. Nakata [et al] // Biochemical and biophysical research communications. – 1999. – Vol. 261 (3). – P. 56–65.

17. Chromosomal localization of seven PAX genes and cloning of a novel family member, PAX-9 / P. Stapleton, A Weith, P. Urbanek, Z. Kozmik [et al] // Nat. Genet. – 1993. – Vol. 3 (4). – P. 292–300.

18. Dlx5 and Dlx6 Regulate the Development of Parvalbumin-Expressing Cortical Interneurons / Yanling Wang, Catherine A. Dye, Vikaas Sohal [et al.] // The Journal of Neuroscience. – 2010. – Vol. 30 (15). – P. 5334 –5345.

19. Gould D. Cloning, characterization, localization, and mutational screening of the human Barx1 gene / D. Gould, M. Walter // Genomics. – 2000. – Vol. 68. – P. 336–342.

20. Growth factor independence-1 (Gfi-1) plays a role in mediating specific granule deficiency (SGD) in a patient lacking a gene-inactivating mutation in the C/EBP_ gene / Arati Khanna-Gupta, Hong Sun, Theresa Zibello, [et al.] // Blood. – 2007. – Vol. 109 (10). – P. 4181–4190.

21. Hacking S. A. Applications of microscale technologies for regenerative dentistry / S. A. Hacking, A. Khademhosseini // J. DENT. – 2009. – Vol. 19 (19). – P. 81–90.

22. Heldin C. H. Platelet-derived growth factor: isoform-specific signalling via heterodimeric or homodimeric receptor complexes / C. H. Heldin, A. Ostman, A. Eriksson, A. Siegbahn, L. Claesson-Welsh, B. Westermark // Kidney Int. –1992. – Vol. 41 (3). – P. 571–575.

23. Heldin C. H. Platelet-derived growth factor: three isoforms and two receptor types / C. H. Heldin, B. Westermark // Trends Genet. – 1989. –Vol. 5 (4). – P. 108–119.

24. Herpin A. Transforming growth factor-beta-related proteins: an ancestral and widespread superfamily of cytokines in metazoans / A. Herpin, C. Lelong, P. Favrel // Dev Comp Immunol. – 2004. – Vol. 28 (5). – P. 461–485.

25. Iridogoniodysgenesis syndrome; a case report / T. Knezevic, K. Novak-Laus, J. Skunca [et al.] // Acta Clin. Croat. – 2008. – № 47. – P. 161–164.

26. Itoh N. Functional evolutionary history of the mouse Fgf gene family / N. Itoh, D. M. Ornitz // Dev. – 2008. – Vol. 237 (1). – P. 18–27.

27. Jane Viti Wnt Regulation of Progenitor Maturation in the Cortex Depends on Shh or Fibroblast Growth Factor 2 / Jane Viti, Alexandra Gulacsi, Laura Lillien // The Journal of Neuroscience. – 2003. – Vol. 23(13). – P. 5919–5927.

28. Korchagina N. Annelid Distal-less/Dlx duplications reveal varied post-duplication fates Carmel McDougall 1, 2, 3, / N. Korchagina, L. T. Jonathan, E. K. David, Ferrier McDougall // BMC Evolutionary Biology. – 2011. – Vol. 11 – P. 241–250.

29. Lack of p21 expression links cell cycle control and appendage regeneration in mice / K. Bedelbaeva, A. Snyder, D. Gourevitch [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2010 – Vol. 107 (11). – P. 5845–5895.

30. Lhx1 and Lhx5 maintain the inhibitory-neurotransmitter status of interneurons in the dorsal spinal cord / A. Pillai, A. Mansouri, R. Behringer [et al.] // Development. – 2007. – Vol. 134 – P. 357–366.

31. Linkage of autosomal dominant iris hypoplasia to the region of the Rieger syndrome locus (4q25) / E. Heon, B. P. Sheth, J. W. Kalenak, S. [et al.] // Hum Mol Genet. – 1995. – Vol. 4 (8). – P. 14–35.

32. Logan C. W. The Wnt signaling pathway in development and disease / C. W. Logan, R. Nusse // Cell. Dev. Bio. – 2005. – Vol. 20. – P. 781–810.

33. Marshall R. Bone Morphogenetic Protein / R. Marshall, S. Basil // Journal of Dental Research. – 1971. – Vol. 50 (6). – P. 1392–1406.

34. Marshall R. Bone: formation by autoinduction / R. Marshall // Science. – 1961. - Vol. 150 (698). – P. 893–899.

35. Moghadam H. G. Successful mandibular reconstruction using a BMP bioimplant / H. G. Moghadam, G. K. Sandor, C. M. Clokie // J. Craniofac Surg. – 2001. – Vol. 12 (2). – P. 119–127.

36. Nelson W. J. Convergence of Wnt, B-Catenin, and Cadherin Pathways. / W. J. Nelson R Nusse // Science. – 2004 – Vol. 303. – P. 1483–1487.

37. Oncogenic cooperation and coamplification of developmental transcription factor genes in lung cancer / J. Kendall, Q. Liu, A. Bakleh [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 2007. – Vol. 104 (42). – P. 16–66.

38. Pitx2 determines left-right asymmetry of internal organs in vertebrates / A. K. Ryan, B. Blumberg, C. Rodrigez-Esteban [et al.] // Nature. – 1998. – Vol. 394, 6693. – P. 545–551.

39. Reddi A. H. Bone morphogenetic proteins (BMPs): from morphogens to metabologens / A. H. Reddi, A. Reddi // Cytokine & growth factor reviews. – 2009. – Vol. 20. – P. 31–34.

40. Reduced conditioned fear response in mice that lack Dlx1 and show subtype - specific loss of interneurons / T. Damon, I. Merzlyak, H. Laurence [et al.] // J Neurodevelop Disord Accepted. – 2009. – Vol. 23. – P. 568–575.

41. Roessler E.The mutational spectrum of holoprosencephaly-associat ed changes within the SHH gene in humans predicts loss-of-function through eith er key structural alterations of the ligand or its altered synthesis / E. Roessler, M. Muenke // Pub. Med. – 2009. – Vol. 19. – P. 32–35.

42. Ruiz A. Gli proteins encode context-dependent positive and negative functions: implications for development and disease / Ruiz Altaba // Development. – 1999. – Vol. 126 (14). – P. 5–16.

43. Shinji K. A. House Fly Gene Homologous to the Zinc Finger Proto-oncogene Gfi-1 / K. Shinji, G. S. Jeffrey // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2001. – Vol. 283 – P. 644–647.

44. SMAD 8 binding to mice Msx1 basal promoter is required for transcriptional activation / R. Binat, C. E. Alvarez Martinez, L. Pizzatti [et al.]// Biochem. J. – 2006. – Vol. 393. – P. 141–150.

45. Sonic hedgehog regulates growth and morphogenesis of the tooth / H. R. Dassule, P. Lewis, M. Bei [et al.] // Development. – 2000. – Vol. 127 (22). – P. 75–85.

46. Sulyok S. Activin: an important regulator of wound repair, fibrosis, and neuroprotection / S. Sulyok, M. Wankell, C. Alzheimer, S.Werner // Mol. Cell. Endocrinol. 2004. – Vol. 225 (1–2). – P. 27–32.

47. The nephrogenic potential of the transcription factors osr1, osr2, hnf1b, lhx1 and pax8 assessed in Xenopus animal caps / C. Drews, S. Senkel, Gerhart U Ryffel Drews [et al.] // BMC Developmental Biology. – 2011. – № 11(5). – P. 56–68.

48. The output of Hedgehog signaling is controlled by the dynamic association between Suppressor of Fused and the Gli proteins / E. W. Humke, K. V. Dorn, L. Milenkovic [et al.] // Genes Dev. – 2010. – Vol. 24 (7). – P. 67–82.

49. The p21 Cdk-interacting protein Cip 1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases / J. W. Harper, G. R. Adami, N. Wei, K. Keyomarsi [et al.] // Cell. – 1993. – Vol. 75 (4). – P. 805–821.

50. Ulloa F Wnt Won the War: Antagonistic Role of Wnt over Shh Controls Dorso-Ventral Patterning of the Vertebrate Neural Tube / F. Ulloa, E. Marti // Developmental Dynamics. – 2009. – Vol. 239 (1). – P. 69–79.

51. Ventral Abdominal Wall Dysmorphogenesis of Msx1/Msx2 Double-Mutant Mice / O. Hidenao, K. Susuri, Y. Ogino [et al.] // The Anatomical record part. – 2005. – Vol. 284. – P. 424–430.

52. Qahash M. Bone morphogenetic proteins for periodontal and alveolar indications; biological observations - clinical implications / M. Qahash, Y-H Huang, A. Xiropaidis, G. Polimeni, C. Susin // Orthodontics & Craniofacial Research. – 2009. – Vol. 12 (3). – P. 263–270.

53. Wnt signalling regulates adult hippocampal neurogenesis / D. C. Lie, S. A. Colamarino, H. J. Song [et al.] // Nature. – 2005. – Vol. 437 (7063). – P. 13–70.

54. Won Jaejoon. Sp1 and Sp3 recruit histone deacetylase to repress transcription of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) promoter in normal human somatic cells / Won Jaejoon, Yim Jeongbin, Kim Tae Kook // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol. 277 (41). – P. 256–269.

55. Xu P. The role of activin in neuropeptide induction and pain sensation / P. Xu, A. K. Hall // Dev. Biol. – 2006. – Vol. 299 (2). – P. 3–9.

56. Kawano Y. Secreted antagonists of the Wnt signalling pathway / Y. Kawano, R. Kypta // J. Cell. – 2003. – Sci. 116 (Pt. 13). – P. 26–34.

Патологічна анатомія запальних захворювань пародонта

Етіологія і патогенез. У виникненні та розвитку хвороб пародонта основну роль відіграють місцеві та загальні фактори, пов'язані між собою складним і до кінця не з'ясованим зв'язком. Обмежені запальні, поверхневі та глибокі ураження можуть розвиватися під впливом лише місцевих причин (механічна або хімічна травма, дефекти лікування й протезування, мікроорганізми та ін.).

Генералізовані ураження пародонта – гінгівіти, пародонтити, пародонтози виникають у результаті поєднаного впливу місцевих та загальних факторів на тлі зміненої реактивності організму. До місцевих чинників належать: зубний наліт, зубний камінь, травма тканин пародонта, функціональна недостатність. Зубні відкладення містять велику кількість мікроорганізмів, завдяки ферментативній активності яких можуть спостерігатися дегенеративні зміни дотичних до них клітин епітелію: порушується їх проникність, відбувається деполімеризація міжклітинної речовини епітелію та основної речовини сполучної тканини, підвищується проникність капілярів, змінюється колаген. Мікробний фактор має основне значення в утворенні патологічного зубоясенного кармана. Мікрофлора порожнини рота відіграє активну роль у розвитку різних форм ураження пародонта, за винятком чисто дистрофічної. Травматичні фактори можуть бути причиною розвитку обмежених уражень пародонта (гінгівіт, пародонтит).

Перевантаження тканин пародонта може виникати при глибокому різцевому перекритті, змішаному прикусі, скупченні нижніх фронтальних зубів, ранній втраті молярів і премолярів, після видалення великої кількості зубів (рухомість зубів після видалення сусідніх), при неправильному визначенні показань до мостоподібного протезування, після хейло- і уранопластики, при бруксизмі та ін.

Перевантаження окремих зубів значною мірою посилюється при пародонтиті та пародонтозі, активізуючи запальні та атрофічно-резорбтивні процеси в навколозубних тканинах і сприяючи руйнуванню зв'язкового апарату кісткової тканини. Недолік функції жувального апарату знижує резистентність тканин пародонта до різних зовнішніх впливів (мікроорганізми, механічні фактори), сприяє одночасно відкладенню зубного каменя. Тому при функціональній недостатності найчастіше розвиваються запальні форми захворювання. До загальних факторів належать: нестача вітамінів А, групи В, С, Е, що впливає на функцію й структуру сполучнотканинних елементів тканин пародонта, стан його бар'єрної функції. Значна роль у походженні захворювань пародонта відводиться порушенню фосфорно-кальцієвого, білкового, жирового, вуглеводного обмінів в організмі; стану судинної, нервової, ендокринної систем, реактивності організму, спадкової схильності. Основні нозологічні форми запальних процесів пародонта відображені в Міжнародній класифікації хвороб (МКХ–15) табл. 2

Таблиця 2 – Розподіл за видами запалення різних морфологічних форм пародонтитів

Альтеративне запалення	Ексудативне запалення	Проліферативне запалення
Морфологічні форми запалення пародонта		
Виразковий гінгівіт K05.0	Гострий катаральний гінгівіт K05.1	Фіброзна форма гіпертрофічного гінгівіту K06.1
Гострий некротизуючий виразковий гінгівіт A69.1	Хронічний катаральний гінгівіт K05.1	Фіброзний епуліс K06.82
Гінгівостоматит, викликаний вірусом простого герпесу [Herpes simplex] B00.2	Пародонтальний абсцес K05.2	Ангіоматозний епуліс K06.8
		Гігантоклітинний епуліс K06.8

Клінічна картина і діагноз. Клініка визначається формою й стадією ураження пародонта. Для гінгівіту характерна наявність набряку, гіперемії, кровоточивості (*катаральний гінгівіт*), виразки (*виразковий гінгівіт*), гіпертрофії (*гіпертрофічний гінгівіт*), атрофії (*атрофічний гінгівіт*) ясенного краю. Пародонтит характеризується кровоточивістю, різного ступеня рухомістю зубів, больовими відчуттями, гіперестезією шийок зубів, гнійними виділеннями з патологічного зубоясенного кармана, йод- позитивною пробою.

Гінгівіт

Гінгівіт – ураження ясен, що може проявлятися як самостійне захворювання або бути симптомом інших хвороб (наприклад, лейкозів). За етіологічною ознакою гінгівіти можуть бути первинними і вторинними, за морфологічними змінами: атрофічними, гіпертрофічними (набряклими або фіброзними), катаральними, некротичними, виразковими.

Етіологія. Виникнення гінгівіту обумовлене як загальними, так і місцевими факторами. Первинні зміни ясен частіше викликаються місцевими подразниками – травмою, опіками (хімічними, термічними). Вторинні зміни зумовлені загальними порушеннями в організмі. У цих випадках гінгівіт є симптомом соматичних захворювань (хвороби ендокринної системи, шлунково - кишкового тракту, крові, наслідком вітамінної недостатності і т. п.). Ступінь інтенсивності патологічного процесу залежить як від тривалості дії факторів зовнішнього та внутрішнього середовищ, так і від стану реактивності тканин. Різний характер клінічного прояву запальної реакції у тканинах ясен необхідно розцінювати не як самостійні форми, а як різні фази патологічного процесу.

За клінічними проявами гінгівіти поділяють на гострі та хронічні.

Гострі гінгівіти характеризуються набряком, гіперемією, кровоточивістю, іноді виразкуванням. На початкових стадіях запалення або під час загострення ми спостерігали підвищення рівня нейтрофільної інфільтрації. Епітеліальне з’єднання та незначна прилегла частина епітелію борозни найбільш проникні для клітин крові. Утворення змішаноклітинної інфільтрації здебільшого відбувається у ділянках власної пластинки біля з’єднувального епітелію та епітелію борозни.

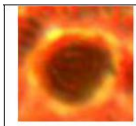
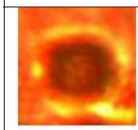
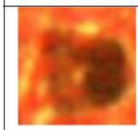
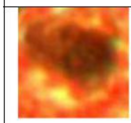
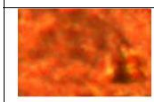
Формування щільного лімфоцитарного інфільтрату є основним механізмом запальної клітинної відповіді. З’єднувальний епітелій та епітелій борозни формують вирости в товщу сполучної тканини (rete ridges). Поблизу лімфоцитів спостерігається велика кількість пошкоджених фібробластів. На цьому етапі під час розвитку захворювання пародонта виявляються зміни на біохімічному і мікроскопічному рівнях без значних клінічних проявів. Згодом розвиваються набряк та значне накопичення запальних клітин. Посилене злущування епітелію ясен відмічається під час запального процесу та проявляється у вигляді десквамативного гінгівіту.

На тлі зміненої реактивності організму із різким зниженням резистентності тканин маргінального пародонта під дією анаеробної флори (фузоспірилярним симбіозом) виникає виразково-некротичний гінгівіт. Він часто спостерігається в ослаблених осіб із зниженим харчуванням, тяжкими загальними соматичними специфічними або неспецифічними захворюваннями. Перебіг захворювання погіршують грип, ангіна, гіповітаміноз, алергія, хвороби крові, відсутність гігієни порожнини рота і т. д.

Морфологічна картина. Виразково-некротичний гінгівіт починається з ознак катарального запалення – почервоніння, припухлості, кровоточивості ясен. Відзначається генералізована виразка ясенного краю з висіченням верхівок сосочків. Виразкова поверхня покрита некротичним нальотом брудно -сірого кольору. Характерне відкладення зубного каменя. При виразково-некротичному стоматиті процес поширюється на слизову оболонку щік, губ, язика.
Захворювання супроводжується поганим самопочуттям, відсутністю апетиту, підвищеною дратівливістю, підвищенням температури, збільшенням і болючістю регіональних лімфатичних вузлів. Виявляються зміни з боку формених елементів крові.

Дослідження глибини пошкодження ДНК при запаленні пародонта за допомогою методу ДНК-комет засвідчило високу кореляційну залежність між тяжкістю ураження тканин пародонта та змінами ДНК. Їх класифікували на п'ять типів залежно від ступеня пошкоджень ДНК: С0 (ДНК інтактних клітин), С1 (фрагменти ДНК розміром > 300 тисяч пар нуклеотидів), С2 (фрагменти < 50 тисяч пар нуклеотидів), С3 (фрагменти 180 пар нуклеотидів), С4 (деградація геному та екскреція низькополімерної ДНК із клітин) (табл. 3). У цілому кількість виходу ДНК у хвості комети коливалася від 1,23 до 25,0 % залежно від тяжкості ушкодження тканин пародонта. Середній показник відсотка ядер із позитивною реакцією при запаленні пародонта становив (11,32 ± 1,27) %.

Таблиця 3 – Комети різних класів. Забарвлення $AgNO_3$. Окуляр × 40. Камера 3Mp

	Комета інтактної клітини С0
	Комета класу С1, фрагменти ДНК, 300 тисяч пар нуклеотидів
	Комета класу С2, характерна для передапоптотичних клітин з фрагментами ДНК, 50 000 пар нуклеотидів
	Комети класу С3, відповідають апоптотичним клітинам з міжнуклеосомною фрагментацією ДНК, 180 пар нуклеотидів
	Комети С4 свідчать про загибель клітин за типом некрозу

Проапоптотичний ензим р53 експресія під час запалення. У всіх зразках пародонта наявні ядра як із позитивною реакцією, так і з негативною реакцією (рис. 2 та 3). У цілому кількість р53-позитивних ядер коливалася від 10,8 до 41,4 %. Середній показник відсотка ядер із позитивною реакцією при запаленні становив (24,8 ± 2,5) %. Траплялися клітини на стадії утворення апоптотичних тілець (рис 4). Інтенсивність експресії р53 обумовлена особливостями запалення у пародонті, адже відомо, що лектини деяких пародонтопатогенів стимулюють апоптоз. Також ензим р53 може відігравати роль антиоксиданта.

Ми провели перевірку вибірок на нормальність за допомогою модифікованого критерію Колмогорова і Смирнова. В обох випадках гіпотеза про нормальність не відхилена і становила 0,16 при 0,28 і 0,16 – при 0,14 відповідно. F-критерій Фішера становив 4,15 ($p = 0,006$).

Результати поодиноких досліджень, проведених на клінічно здорових тканинах ясен, підтвердили апоптоз-асоційоване пошкодження ДНК та експресію *p53*- і *BCL-2*- генів, що викликалися бактеріями [1]. Подібні результати одержали M. S. Tonetti та ін. [2], які виявили апоптоз у тканинах ясен пацієнтів із запаленням та пародонтальними карманами більше 5 мм, що частково пояснює механізм руйнування зубоутримувальних тканин при пародонтитах.

Результати спостережень у досліджуваних об'єктах виявилися кореляційно зв'язаними. Діаграма розсіювання ступеня пошкодження ДНК із рівнем експресії р53 дозволяє говорити про форму та зв'язок між ознаками. Цей зв'язок має лінійну залежність (рис 5). Показано, що кореляція між показниками дорівнює 0,7614 при $p = 0,0004$, величина середньоквадратичних відхилень становить $Sx = 9,10$ і $Sy = 3,59$, а величина класових інтервалів $\lambda x = 2$ і $\lambda y = 3$. Визначення коефіцієнта регресії пошкодження ДНК від рівня експресії р53 при запаленні пародонта показало, що збільшення пошкодження ДНК тканин пародонта на 1 % призводить до збільшення активації р53 на 1,79 %, а збільшення активації р53 на 1 % призводить до збільшення пошкодження ДНК на 11,55 %.

Одним із механізмів що спричиняють апоптотичні зміни в клітинах, є епігенетичне метилування ДНК, яке активується різними екологічними факторами: стресами, дією токсинів, канцерогенів, інфекційних агентів , цитокінів та ін. Паралельно цьому процесу спостерігалися сигнальні шляхи клітини, внаслідок цих екологічних перетворень відбувалося патологічне та епігенетичне метилування.

Найбільш небезпечним ендогенним алкілувальним агентом є S-аденозинметіонін (SAM) [3], який утворюється з амінокислоти метіоніну. SAM – це кофермент, що бере участь у більше ніж 40 метаболічних реакціях перенесення метильних груп на нуклеїнові кислоти, білки й ліпіди [4]. З одного боку, ферментативне метилування ДНК необхідне для регуляції експресії генів, з іншого боку, це може призвести до неензиматичног о мутагенезу ДНК [5].

Упродовж 1 доби в одній соматичній клітині S -аденозинметіонін здатний утворити кілька тисяч залишків 7 -метилгуаніну, сотень –
3-метиладеніну і десятків – про-6-метилгуаніну, 7-метилгуаніну, що погано репаруються [6]. Перші два адукти сприяють утворенню АП-сайтів або блокуванню реплікації ДНК. Рідше виникають мутагенні модифікації О4 -
метилтиміну та О4-етилтиміну. Їжа з надлишковим умістом нітратів і нітритів, цигарковий дим, бактерії та макрофагальна інфільтрація в інфікованих або запальних ділянках призводять до появи шкідливих алкілувальних агентів у клітинах. О6 -Метилгуанін і О4-метилтимін утворюють N-нітрозодиметиламін, що є потужним алкілятором [7]. SAM
спричиняє утворення мінорних піримідинів: 3 -метилтиміну, який блокує реплікацію ДНК, і 3-метилцитозину, що є сильним інгібітором синтезу ДНК
[8].

Ендогенними метилувальними агентами є також бетаїн і холін. Холін відносять до вітамінів групи В (вітамін В4), проте клітини ссавців здатні його синтезувати [9]. Він є попередником нейромедіатора ацетилхоліну, а
також входить до складу мембранних фосфоліпідів (лецитину, сфінгомієліну)
і разом із лецитином сприяє транспорту та обміну ліпідів у печінці. За його відсутності в їжі спостерігаються відкладення жиру в печінці, ураже ння нирок та провокування кровотеч. Однак побічним ефектом холіну є метилування азотистих основ ДНК, що спричиняє мутагенез. Метилуванню ДНК сприяє похідне холіну – бетаїн, основна функція якого в організмі – зниження рівня гомоцистеїну, потенційного токси чного агента. Бетаїн також стимулює перекисне окиснення жирів, виявляє гепатопротекторну та жовчогінну дію.

При перекисному окисненні ненасичених ліпідів, вільного метіоніну та гему утворюється етилен. Його похідне – оксид етилену – спричиняє утворення адукту 7-2-гідроксиметилгуаніну, що має алкілувальні властивості. Це співзвучно з даними IARC та ВООЗ, які доводять шкідливий вплив оксиду етилену на ДНК клітин.

Екзогенними алкілувальними агентами є органічні продукти хімічного, бактеріального синтезу, здатні вводити алкільні радикали (метил-, етил-, бензил-, н-пропіл-, н-бутил-, ізопропіл-, ізобутил-, 2-хлоретил-, 2-гідроксіетил-, піридилоксибутил-) в молекули азотистих основ, тим самим змінюючи експресію генів та спричиняючи їх мутагенез.

Для коректної інтерпретації глибини пошкоджень ДНК клітин пародонта важливо дослідити деформаційні коливання CH_3-груп, азотистих основ та CH_2-груп дезоксирибози. Валентні коливання С-Н-фрагментів груп CH_3, CH_2 виникають в діапазоні від 3 000 до 2 840 $см^{-1}$ із частковим накладанням піків аденіну, тиміну, гуаніну, цитозину. Для диференціації груп CH_3, CH_2 валентні коливання Ssp3-H-зв'язку, як правило, спостерігаються нижче 3 000 $см^{-1}$, тоді як валентні коливання посилюються коливаннями SSP2-N, SSP-N і вище 3 000 $см^{-1}$.

Валентні коливання метильних груп (CH_3) спостерігаються у вигляді двох смуг 2 962 і 2 872 $см^{-1}$. Перша смуга – це результат антисиметричних валентних коливань, в якому дві С-Н-групи розтягуються, а третя С-Н-група зазнає стиснення (νas CH_3).

Друга смуга пов'язана із симетричними валентними коливаннями (νs CH3), коли всі три CH-зв’язки розтягуються або стискаються. Наявність декількох метильних груп приводить до збільшення інтенсивності відповідних діапазонів.

Валентні коливання метиленових груп (CH_2) спостерігаються також у двох діапазонах (2 962 і 2 853 $см^{-1}$) у зв'язку з антисиметричними (νas CH_2) і симетричними (νs CH_2) коливаннями.

У метильній групі можуть виникати два деформаційних коливання: симетричні коливання (δs CH_3), які знаходяться навколо 1 375 см$^{-1}$ і несиметричні коливання (δas CH_3) – 1 450 см$^{-1}$.

Поглинання при 1 375 см$^{-1}$ є важливим критерієм (δs CH_3) групи. Незначна смуга поглинання в спектрі ДНК характеризує компактизовану інтактну ДНК. Метильна група має чотири типи деформаційних коливань (у вигляді ножиць, віялоподібні, трансферні, скручувальні). Найбільш інформативним є поглинання в ділянці 1 465 см$^{-1}$, це деформаційні коливання (δs CH_2). Таким чином, – CH_3- і =CH_2- групи порівняно з ДНК неушкодженого пародонта та при запаленні ми аналізуємо в смузі поглинання.

Значні зміни ДНК пародонта при запаленні спостерігались у смузі поглинання ІЧ-спектрів. У інтактному пародонті -CH_3 ІЧ-смуги були незмінними (рис. 6). Центр групи коливання – δsSN_3 був у діапазоні (1 375 ± 1) см$^{-1}$. Інтенсивність у відсотках за шкалою поглинання інфрачервоного випромінювання становила (7,18 ± 0,74) %. Відсоток інфрачервоних смуг поглинання, що знаходився у діапазоні (1 375 ± 1) см$^{-1}$, у запаленому пародонті дорівнював (10,39 ± 2,44) % (*** $p = 0{,}001$).

Зміни у смузі ІЧ–поглинання у групах δsCH_2 були такими. В інтактному пародонті δsCH_2 коливання у центрі смуги становили 1464 см$^{-1}$. Відсоток інтенсивності за шкалою поглинання інфрачервоного випромінювання досягав (0,24 ± 0,03) %. Відсоток смуг ІЧ-поглинання 1 464 см$^{-1}$ при запаленні був у межах (0,32 ± 0,06) % (*** $p = 0{,}001$).

Bcl-2 є антиапоптотичним ензимом багатьох клітин, але цей білок відіграє ключову роль у гемопоетичних клітинах, спричиняючи блокування APAF-1 фактора апоптозу та запобігаючи виходу цитохрому С із мітохондрій. Результати імуногістохімічного аналізу показали різну експресію Bcl-2 епітелієм та клітинами запального інфільтрату. Патерном експресії є цитоплазма клітин. У процесі оцінювання експресії цього ензиму лейкоцитами, що мігрували через епітелій у зубоясенний простір, була 100 % Bcl-2-позитивна реакція.

Траплявся інфільтрат клітин, які не експресували Bcl-2. Здебільшого це спостерігалося при загостренні запалення. При цьому лише (72,3 ± 3,47) % клітин інфільтрату експресували Bcl-2. Ми також спостерігали значну експресію Bcl-2 клітинами інфільтрату при хронічному запаленні – (88,3 ± 3,89) %.

Установлено, що *Porphyromonas gingivalis* і *Fusobacterium nucleatum* в ясенних епітеліальних клітинах спричиняють експресію *DNMT1*–гена. Можливо, метилування ДНК сприяє регуляції запальних генів, які здійснюють регуляцію у запальних реакціях пародонта. *Porphyromonas gingivalis* і *Fusobacterium nucleatum* призводять до зміни метилування промоторів у регіонах декількох генів (*PTGS2, TNFA і IFNG*), що беруть участь у запальних імунних реакціях пародонта [10].

Campylobacter rectus – пародонтопатоген, що має декілька фактор ів вірулентності: синтез білків– шаперонів на своїй поверхні, а також властивих їм джгутиків, здатних проникати в міжклітинні з’єднання [11, 12]. *Campylobacter rectus* може активувати у пародонті синтез цитокінів, особливо IL-6 і TNF-A [154].

Хронічне запалення тканин, викликане *Campylobacter rectus* та *Helicobacter pylori*, призводить до посилення метилування промотору IGF2, HMLH1. Аналіз даних, одержаних дослідниками, свідчить про зменшення експресії гена *COX-2, PTGS2* (циклооксигенази-2 або простагландин-ендопероксидсинтетази-2) унаслідок метилування [13, 14]. Фермент COX-2– каталізує синтез простагландину, зокрема простацикліну і тромбоксану. Інгібування циклооксигенази послаблює симптоми запалення та біль [15, 16]. Експериментально створені радикулярні кісти та гранульоми у щурів, які мали патологічне алкілування гена *IFNG* епітеліальної гранульоми [17]. Подібними дослідженнями щодо гена *IFNG* доведена наявність патологічного метилування при гострих гінгів ітах [18]. Мішель Батіз та ін. [19] на 34 зразках тканин пародонта після кюретажу встановили патологічне метилування гуаніну гена *IL-10* у позиціях –373, −352, −350, −320 та −185.

Епігенетичні зміни (фізіологічне метилування) у генах є природними для соматичних клітин. Зняття метильних груп із промоторної ділянки спричиняє їх експресію. Гостре запалення пародонта призводить до деметилування гена *IL-6* та збільшення білкового продукту [20]. Гіперметилування азотистих основ генів *E-CADHERIN* та *COX-2* у хворих на пародонтити висвітлено у праці Вінг Лу зі співавторами [21]. Дослідники пропонують використовувати метилспецифічну ПЛР для діагностики та у перспективі лікування пародонтиту.

При хронічних гінгівітах переважає запалення продуктивного характеру, коли ясна гіперплазуються, частково або повністю прикривають коронку зуба. Частинки їжі, залишаючись між зубом і яснами, розкладаються, з'являється неприємний запах із рота. Інтенсивно утворюється зубний камінь. У разі переважання гіперпластичного процесу при хронічних гінгівітах (розростання сполучної тканини) ясна стають щільними, болючими, але кровоточивість відсутня.

Етіологія. Хронічні гінгівіти розвиваються при порушенні функцій шлунково-кишкового тракту, ендокринної та інших систем організму, а також за наявності довготривалих місцевих травматичних чинників (аномалії прикусу, відкладення зубного каменя, некоректних металевих коронок та ін.).

Патогенез. Продуктивне запалення супроводжується гіпертрофією тканин ясен, а іноді гіперплазією сполучної тканини.

Морфологічна картина. На початковій стадії відзначаються набряклість і гіперемія ясен, збільшення ясенних сосочків. Ясна стають синюшними внаслідок венозного застою, з подальшим підвищенням проникнення стінок судин виникає кровоточивість. Відкладення під’ясенного зубного каменя сприяє розвитку запального процесу. При переважанні процесу проліферації відзначаються збільшення та ущільнення ясенного краю і міжзубних сосочків, що покривають коронки зубів.

Ми визначили чотири варіанти клітинних інфільтратів при пародонтитах: вузловий (нодулярний) – лейкоцити скупчуються в осередках запалення (рис. 7), іноді з утворенням псевдофолікулів; трабекулярний – імунні клітини утворюють шари або трабекули (рис. 8); дифузний – лейкоцити розміщені навколо колагенових волокон у вигляді окремих розміщені клітин (рис. 9); змішаний – комбінація різних форм запальної інфільтрації (рис. 10).

Результати первинного загострення запалення пародонта показані на рис. 11. Колагенові волокна набряклі (рис. 11 A), відбуваються руйнування ясенного краю та поширення на більш глибокі шари пародонта, зокрема на підтримувальні тканини. Вплив вторинної альтерації прискорює запалення, що спричиняє руйнування колагенових структур пародонта. Руйнування сполучної тканини, спричинене вторинною альтерацією, характеризується більш глибокими ушкодженнями пародонта (рис. 12 B).

Морфологічні зміни пародонта при його хронічному запаленні (рис. 13) характеризуються розширенням тонкостінних судин із пухкою набряклою стромою, що посилює набряк. Поширення набряку на колагенові волокна призводить до часткового їх розщеплення і, як наслідок, – до збільшення глибини інфільтрації запальних клітин (рис. 14 A), що і характеризує хронічне запалення (рис. 14). Ми спостерігали тенденцію до нодулярного типу інфільтрату при хронічному запаленні.

Гінгівіт гіпертрофічний – хронічне запалення ясен, що характеризується їх гіперплазією.

Етіологія. Аномалії положення зубів і прикусу, гіповітаміноз, спадкові чинники, зміни гормонального статусу (ендокринні захворювання, період статевого дозрівання, вагітність, менопауза), загальні захворювання (лейкемічні ретикульози), хронічні інтоксикації, вживання деяких лікарських засобів (ніфедипіну, карбмазепіну, циклоспорину та ін.).

Морфологічна картина. Гіпертрофічний гінгівіт проявляється збільшенням в об’ємі ясенних сосочків, появою хибних зубоясенних карманів.

Епітеліальне зубоясенне прикріплення при цьому не порушене, патологічних змін у кістковій тканині альвеоли немає.

За клініко - морфологічними змінами виділяють набрякову і фіброзну форми хронічного гіпертрофічного гінгівіту.

Морфологічно набрякова форма гіпертрофічного гінгівіту проявляється набряком сполучнотканинних елементів ясенних сосочків, розширенням судин, набуханням колагенових волокон, лімфоплазмоцитарною інфільтрацією тканин.

Морфологічно фіброзна форма гіпертрофічного гінгівіту проявляється проліферацією сполучнотканинних елементів ясенних сосочків, потовщенням колагенових волокон, явищами кератозу. Набряк і запальна інфільтрація тканин у цьому випадку не виражені. За патогенетичною суттю та морфогенезом такий гінгівіт подібний до фіброзного епулісу.

Список літератури

1. Reed J. C. Bcl-2 family proteins / J. C. Reed // Oncogene. – 1998. – № 15. – P. 3225–3236.

2. Tonetti M. S. In situ detection of apoptosis at sites of chronic bacterially induced inflammation in human gingiva / M. S. Tonetti, D. Cortellini, N. P. Lang // Infect. Immun. – 1998. – № 66. – P. 5190–5195.

3. S-adenosyl methionine: A connection between nutritional and genetic risk factors for neurodegeneration in Alzheimer's disease / F. Tchantchou, M. Graves, D. Ortiz [et al.] // J. Nutr Health Aging. – 2006. – № 10 (6). – P. 541–545.

4. RlmN and Cfr are radical SAM enzymes involved in methylation of ribosomal RNA / Feng Yan, M. Jacqueline LaMarre, Rene Röhrich [et al.] // J. Am. Chem. Soc. – 2010. – №. 132 (11). – P. 3953–3964.

5. Janice R. Sufrin Marine-Derived Metabolites of S-Adenosylmethionine as Templates for New Anti-Infectives / R. Janice Sufrin, Steven Finckbeiner, M. Colin // Oliver Marine Drugs. – 2009. – Vol. 7. – P. 401–434.

6. S-Adenosylmethionine and methylation / R. K. Gordon, J. Tal, G. C. Zeng, [et al.] // J. FASEB. – 1996. – Vol 10. – P. 471–480.

7. Janice R. S. Marine-Derived Metabolites of S-Adenosylmethionine as Templates for New Anti-Infectives / R. Janice Sufrin, Steven Finckbeiner, M. Colin // Oliver Marine Drugs. – 2009. – Vol. 7. – P. 401–434.

8. RD6-2198, a novel betain-type fluoroalkylated oligomer, inhibits the replications of human immunodeficiency virus type 1 and other enveloped viruses / M. Fujiwara, N. Ashida, M. Okamoto [et al.] // Antiviral Res. – 1998. – Vol. 38 (2). – P. 141–150.

9. The effect of betain on biology and morphology of developmental stages of Eimeria acervulina in broiler chicks experimentally infected / M. Teixeira, T. M. Niang, A. V. Gomes [et al.] // Rev. Bras. Parasitol. – 2006. – Vol. 15 (4). – P. 193–201.

10. Yin L. Epigenetic regulation of human beta-defensin 2 and CC chemokine ligand 20 expression in gingival epithelial cells in response to oral bacteria / L. Yin, W. O. Chung // Mucosal. Immunol. – 2011. – № 4 (4). – P. 409–419.

11. Hinode D. Antigenic properties of the GroEL-like protein of campylobacter rectus / D. Hinode, M. Yokoyama, S. Tanabe // Oral. Microbiol. Immunol. – 2002. – № 17. – P. 16–21.

12. Tanabe S. Helicobacter pylori and campylobacter rectus share a common antigen / S. Tanabe // Oral. Microbiol. Immunol. – 2003. – № 18. – P. 79–87.

13. Arce R. M. Characterization of the invasive and inflammatory traits of oral campylobacter rectus in a murine model of fetoplacental growth restriction and in trophoblast cultures / R. M. Arce // J. Reprod. Immunol. – 2010. – № 84. – P. 145–153.

14. Alteration of PTGS2 Promoter Methylation in Chronic Periodontitis / S. Zhang, S. P. Barros, M. D. Niculescu [et al.] // J. Dent. Res. – 2010. – Vol. 89 (2). – P. 133–137.

15. Kurumbail R. Cyclooxygenase enzymes: Catalysis and inhibition / R. Kurumbail, J. R. Kiefer, L. J. Marnett // Current Opinion in Structural Biology. – 2001. – Vol. 11 (6). – P. 752–60.

16. Human Cyclooxygenase-2 is a Sequence Homodimer That Functions as a Conformational Heterodimer / L. Dong, A. J. Vecchio, N. P. Sharma [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2011. – Vol. 21. – P. 286–307.

17. Campos K. Methylation Pattern of IFNG in Periapical Granulomas and Radicular Cysts Basic Research / K. Carolina, Cavalieri Gomes, Jeane de Fatima Correia-Silva // Biology. – 2013. – Vol. 39. – № 4. – P. 493–796.

18. Interferongamma promoter hypomethylation and increased expression in chronic periodontitis / S. Zhang, A. Crivello, S. Offenbacher [et al .] // J. Clin. Periodontol. Current. – 2010. – № 37. – P. 953–961.

19. Methylation pattern of IFN- and IL-10 genes in periodontal tissues / M. B. Viana, F. P. Cardoso, M. G. Diniz [et al.] // Immunobiology. – 2011. – № 216. – P. 936– 941.

20. Expression, polymorphism and methylation pattern of interleukin-6 in periodontal tissues Florenc / S. Abdanur, M. B. Vianaa, A. C. Dupim [et al] // Immunobiology. – 2013. – Vol. 7. – P. 2– 5.

21. Epigenetic change in E-Cardherin and COX-2 to predict chronic periodontitis / Wings T. Y. Loo, Lijian Jin, Mary N. B. Cheung [et al .] // Journal of Translational Medicine. – 2010. – № 8. – P. 110–116.

Пародонтити

У 60-х рр. минулого століття вважалося, що запальні захворювання пародонта – це патологічний стан, в якому однаково уражені всі особи, особливо після 35 років, і який неминуче призводить до втрати зубів [1]. Зараз в уявленні про етіологію запальних захворювань пародонта з’явилося поняття про фактори ризику, наявність яких чітко підтверджується епідеміологічними дослідженнями [2, 3, 4]. Фактори ризику, що підвищують імовірність розвитку та ускладнюють перебіг патології пародонта запального характеру, поділяють на модифіковані (такі, на наявність яких ми можемо вплинути) та немодифіковані (такі, на наявність яких ми не можемо вплинути).

До модифікованих факторів ризику належать паління, мікроелементози, цукровий діабет, гігієна та характер мікрофлори ротової порожнини, ожиріння, соматична патологія, стрес, соціальний статус. Провідна роль серед них належить палінню, наявності певних мікроорганізмів ротової порожнини та цукровому діабету [5]. Є дані про підвищений ризик ранньої появи пародонтиту у хворих на ішемічну хворобу серця [6].

Діабет має підвищений ризик розвитку захворювань пародонта та є предметом багатьох досліджень, дискусій. Існують численні літературні дані з приводу асоціації діабет – пародонтит [7]. Grossi та ін. [8] відзначають, що цукровий діабет був єдиним системним захворюванням, яке позитивно корелювало з втратою альвеолярного паростка. Поєднання пародонтиту та цукрового діабету є поширеним симбіозом, дуже розповсюдженим в усьому світі [9]. Тяжкі форми пародонтиту часто співіснують із діабетом першого та другого типів і вважаються найбільш частими ускладненнями діабету [10]. Ряд досліджень засвідчив, що високий рівень цукру в крові може сприяти пародонтиту [11] та спричинити у 2,8 раза більшу частоту розвитку цієї нозології [12], а також у 4,2 раза більшу резорбцію альвеолярної кістки [13]. Взаємозв'язок між пародонтитом і діабетом являє собою приклад системного захворювання, що призводить до підсилення одного захворювання іншим [14]. Крім того, пародонтит викликає підвищення рівня il-6 і tnf-α, спричиняючи стійкість до інсуліну [15].

Основними механізмами збільшення ризику захворювань пародонта при діабеті є ангіопатії [16]. Дисфункція нейтрофілів часто спричиняє повільний перебіг процесу запалення зі схильністю до його хронізації з прихованою клінічною картиною [17]. Внаслідок порушення метаболізму сполучної тканини та основної речовини [18] виникає висока концентрація глюкози в ясенній рідині, що сприяє активації мікрофлори [19]. Руйнівний ефект мікрофлори кумулюється відсутністю вираженої запальної тканинної відповіді.

Важливим чинником розвитку ушкоджень пародонта є некоректно зроблені зубні протези. Для виготовлення застосовують різні сплави (КХС – кобальт-хромовий сплав, НХС – нікель-хромовий сплав), у яких містяться хром та нержавіючі сталі двох марок – 20Х18Н9Т і 25Х18Н102С [20]. Надлишкове надходження іонів хрому в організм людини пов’язане з протезуванням. Крім того, хромові сплави широко використовують для виготовлення різного посуду, медичного інструментарію, сантехнічних пристроїв.

Відомо, що іони таких металів, як Cr^{3+}, Co^{2+}, Cd^{2+}, Cu^{2+}, Hg^{2+}, Zn^{2+}, Ag^{1+} та Pb^{2+}, інгібують активність ензиму деметилятора ДНК – MGMT.
Таким чином, іони важких металів сприяють появі пошкоджень ДНК [21, 22**].**

Відзначено велику поширеність (94–100 %) захворювань тканин пародонта в осіб із хронічними захворюваннями органів травлення, що пов’язано з порушенням усіх видів обміну [23]. Хронічні захворювання шлунково-кишкового тракту супроводжуються дефіцитом вітамінів, мінеральних речовин, білків і вуглеводів в організмі, що призводить до функціональних та органічних порушень у слизовій оболонці порожнини рота, розвитку запальних і дистрофічних змін у тканинах порожнини рота [24]. Більше того, при деяких запальних захворюваннях шлунково-кишкового тракту змінюється адсорбція кальцію, заліза, що негативно впливає на стан альвеолярного паростка щелеп [25].

До немодифікованих факторів ризику належать генний поліморфізм гена інтерлейкіну-1 [26], старечий вік, чоловіча стать, негроїдна та латиноамериканська раси. Останні два фактори можуть бути пов'язані з більшою поширеністю серед цих груп населення паління, недостатньою увагою до гігієни ротової порожнини. Так, у бідних країнах Латинської Америки агресивні поширені форми пародонтиту спостерігаються у 0,3 – 4,5 % населення, локалізовані – дещо рідше. Загалом, за даними різних авторів, запальні захворювання пародонта трапляються у 40 – 80 % осіб [27]. У Кенії в 90 % дорослого населення є хоча б 1 клінічна втрата прикріплення, більша за 4 мм [28]. У той самий час в економічно розвинених країнах, таких як США та ін., ці ознаки є у 50 % дорослого населення, більше 6 мм – менше ніж у 20 %, а менше 2 мм – у 80 % дорослого населення.

За даними Американської академії пародонтології 2007 року, до 35 % дорослого населення США страждають на пародонтит, з яких 10 – 15 % − на тяжку форму [29, 30]. В 11 % населення рентгенологічно виявляється істотне (6 мм та більше) зменшення кісткової тканини альвеолярного відростка. Всі ці особи були віком старше 35 років [31]. Із 2003 року було почато програму ранньої діагностики запальних хвороб пародонта. Були розроблені більш жорсткі критерії встановлення діагнозу (2 чи більше міжзубних проміжків із втратою клінічного прикріплення не менше ніж 3 мм та 2 чи більше міжзубних проміжків із глибиною кармана 4 мм (не на одному зубі чи 1 міжзубний із глибиною кармана не менше 5 мм). Це дозволило виявити ще приблизно у 31 % осіб віком 35 років і старше початкові ознаки пародонтиту (дані 2007 року) [32]. Ранній початок пародонтиту виявляється не більше ніж у 10 – 15 % населення та зберігається на нетяжких стадіях усе життя [33].

Масштабні епідеміологічні дослідження запальних захворювань пародонта почалися із 60-х рр. XX століття разом із розвитком стоматологічної служби.

Національні програми з охорони здоров'я та пропаганда належної гігієни ротової порожнини дозволили зменшити поширеність, наприклад, гінгівіту у дітей та підлітків розвинених країн − Нової Зеландії [34], Англії [35], Швеції [36] – за 60 – 70-ті рр. XX ст. у 2 – 2,5 раза до 20 – 30 %. Однак уже у 80-х рр. XX ст. показники погіршилися [37]. Дослідники пов'язують це зі зменшенням уваги батьків і стоматологів до початкових ознак патології.

Частота гінгівіту взагалі та розподіл за віковими групами відрізняються у різних країнах. За даними Американської академії пар одонтології, гінгівіт найбільш поширений у школярів (40 – 60 %) [38] та в осіб похилого віку (80 %) [39]. На кровоточивість ясен страждають 47 % чоловіків та 39 % жінок віком 18 – 64 років. Із віком частота гінгівіту зростає серед чоловіків, а у жінок такої тенденції не спостерігається [40]. На противагу розвиненим країнам у Бразилії гінгівіт спостерігається у 90 – 100 % дітей віком 7 – 14 років (середній гінгівальний індекс – 1,24), а у 100 % осіб віком 14 – 30 років відзначається кровоточивість ясен [41]. Із віком збільшується поширеність гінгівіту. У Турції він спостерігається у 56,2 % 15-річних підлітків і у 62,6 % у 35 – 44-річних осіб [42]. У 34,2 % грузинських підлітків глибина ясенного кармана хоча б одного зуба досягає 5 мм та більше [43].

Суперечності стосовно епідеміології запальних захворювань пародонта у деяких авторів пов'язані насамперед із використанням різних методів оцінювання наявності та стадійності захворювання [44]. Наявність патологічних змін пародонта визначають за наявності гінгівіту під час зондування дентальних карманів, визначення втрати клінічного прикріплення, рентгенологічного оцінювання альвеолярного відростка. Найбільш використовуваним є визначення пародонтального індексу CPITN під час візуального дослідження. Методика мало змінилася з часу її розроблення, але постійно змінюється інтерпретація її результатів. Кожен дослідник керується різними кількісними значеннями зазначенних ознак, які трактуються як «норма – патологія», що призводить до ще більших розбіжностей епідеміологічних даних [45]. У спробі більш точного

визначення наявності та стадійності захворювань пародонта було запропоновано визначати рівень запальних цитокінів у ясенній рідині ясенної борозни – простагландину Е2, фактора некрозу пухлин, інтерлейкінів-1α та -1β [46].
Більшість досліджень не відображають реальних показників, бо проводяться серед осіб зі стоматологічними захворюваннями, які звернулися до стоматолога щодо лікування, і не охоплюють здорових осіб. Термін «захворювання пародонта» часто трактується достатньо широко. Так, у дітей зазвичай досліджується лише захворюваність на карієс [47].

Запалення пародонта ініціюється та підтримується бактеріальним нальотом та його продуктами метаболізму, які викликають місцеву інфільтрацію клітин запалення, що спричиняє пошкодження позаклітинного матриксу [48]. Колаген являє собою основний компонент ясен та альвеолярної кістки і відіграє ключову роль у запальному процесі тканин пародонта [49]. Запальний клітинний інфільтрат має різний склад. В ясенній сполучній тканині залежно від перебігу запалення клітинна популяція змінює склад із нейтрофільного при гострому процесі на змішаний та лімфоцитарний – при хронізації процесу [50].

На ранніх стадіях запалення ясен прозапальні цитокіни секретуються активованими моноцитами, тканинними макрофагами та іншими клітинами (фібробластами, епітеліальними клітинами та ендотеліоцитами) [51]. Макрофаги – це ключовий інструмент імунної системи, що бере участь у прогресуванні пародонтиту та переходу гострого запального стану у хронічний процес [52].
Вони наявні у великій кількості при пародонтиті з активним перебігом [53].
Також важливим джерелом прозапальних цитокінів можуть бути макрофаги, зокрема інтерлейкін-1 (il-1) та фактор некрозу пухлини (tnf-α). Вони стимулюють активацію клітинного імунітету, тим самим посилюючи запалення і сприяючи змінам клітинного складу, що призводить до руйнування колагену [54]. Крім того, Ejeil та ін. [55] довели, що при пародонтиті втрата колагену достовірно корелює зі збільшенням кількості запальних клітин, які експресують CD-3, CD-8 і CD-45. G. J. Seymour та ін. [56] описали поєднання плазматичних

клітин із фібробластами та припустили, що вони відіграють важливу роль у патогенезі запалення пародонта. Існують поодинокі праці стосовно клітинного складу запального інфільтрату тканин пародонта [57].

Під час запалення пародонта ми виявили, що кількість мігруючих лейкоцитів істотно збільшена. Власна пластинка пенетрована шарпеєвими волокнами. Вони анастомозують із волокнами ясен й утворюють колову зв'язку зуба та міжзубні зв’язки, які мають перпендикулярний хід щодо кореня.

Цілісність цих з’єднань є необхідною передумовою для нормальної функції періодонта. Дещо нижче від шийки зуба шарпеєві волокна мають косий напрямок від стінки альвеоли до цементу кореня, отже, зуб ніби підвішений на них.

Волокна періодонта натягнуті в дуже вузькій щілині, обмеженій з одного боку коренем зуба, а з іншого – альвеолярною кісткою. Ця щілина має назву періодонтального простору (рис. 15). Ширина цього простору становить у середньому (0,5 ± 0,2) мм і неоднакова у різних його ділянках. Періодонтальний простір має вигляд пісочного годинника. Структурними компонентами періодонта є його клітини і міжклітинна речовина, що формує волокна.

Періодонт містить колагенові волокна, що формують товсті орієнтовані пучки з утворенням тривимірної мережі.

Колагенові волокна складаються з пучків колагенових фібрил типової будови, характеризуються злегка хвилеподібним ходом, через що здатні подовжуватися під час натягнення.

Пучки колагенових волокон періодонта одним кінцем з’єднуються з цементом кореня, іншим – із кісткою альвеолярного відростка, причому їх термінальні ділянки знаходяться в обох тканинах. Кінці волокон у цементі частково мінералізовані.

На зрізах пародонта ми спостерігали епітеліальні клітини Малясе (острівці Малясе) трьох типів: сплячі, дегенеруючі та проліферувальні.

Сплячі острівці (рис. 16) – це невеликі, оточені базальною мембраною компактні скупчення дрібних клітин із відносно великими ядрами. За структурою вони нагадують базальні клітини.

Дегенеруючий тип острівців (рис. 17) характеризується дрібними розмірами, наявністю темних клітин із пікнотичними ядрами, що зазнають поступового руйнування. Детрит надалі звапнюється й утворює кальцифікати.

Кальцифікати представлені у вигляді дрібних кульок, розкиданих по всій періодонтальній щілині. Частіше вони розміщені ближче до кістки.

Проліферувальний тип залишків острівців Малясе (рис. 18) має великі розміри, ознаки високої синтетичної та проліферативної активності у клітинах.

Епітеліальні залишки острівців Малясе, розростаючись, можуть бути джерелом розвитку кіст і злоякісних пухлин.

Залежно від реактивності організму та морфологічних особливостей ми спостерігали такі зміни в межах зубоясенного з'єднання під час запалення. Якщо альвеолярна кістка була занадто тонкою, то відбувалися резорбція кісткової тканини і рецесія ясен із компенсацією тканин зубоясенного з'єднання або хронізація запалення за тимчасово збереженого рівня кісткової тканини. У деяких випадках ми також спостерігали розростання грануляційної тканини у зубоясенному з'єднанні.

На початкових стадіях запалення або під час загострення ми спостерігали підвищення рівня нейтрофільної інфільтрації. Епітеліальне з'єднання та незначна прилегла частина епітелію борозни найбільш проникні для клітин крові (рис. 19). Утворення змішаноклітинної інфільтрації здебільшого відбувається в ділянках власної пластинки біля з'єднувального епітелію та епітелію борозни.

Формування щільного лімфоцитарного інфільтрату є основним механізмом запальної клітинної відповіді. З'єднувальний епітелій та епітелій борозни формують вирости у товщу сполучної тканини (rete ridges). Поблизу лімфоцитів спостерігається велика кількість пошкоджених фібробластів. На цьому етапі під час розвитку захворювання пародонта виявляються зміни на біохімічному і мікроскопічному рівнях без значних клінічних проявів. Згодом розвиваються набряк та значне накопичення запальних клітин.

Виникнення кісткової резорбції при пародонтитах частково спричинене наслідками діяльності бактерій, що містяться у нальоті. Сформована бактеріями біоплівка, потенційована загальносоматичними та місцевими факторами, підтримує запалення. Питання полягає в тому, яким шляхом проходитиме запальний процес: сформує вертикальну (рис. 20) чи горизонтальну резорбцію кістки, тобто пошириться на періодонтальну щілину (рис. 21).

Ми виявили, що зміни у клітинах пародонта при запаленні починаються на молекулярному рівні та призводять до ушкоджень, які залишаються впродовж тривалого часу.

На підставі проведеного дослідження морфологічної картини у морфогенезі розвитку пародонтиту ми виділили шість стадій ушкодження:

1) початкові клітинні ушкодження, n = 11;

2) глибокі клітинні ушкодження, n = 17;

3) тканинні ушкодження, n = 25;

4) деструктивні ушкодження, n = 17;

5) тяжке ушкодження із вторинною альтерацією, n = 15;

6) прогресуюче ушкодження, n = 9 (рис. 22).

Вираженість ушкоджень пародонта ми оцінювали за допомогою індексу дозрівання епітеліальних клітин та визначення морфологічних змін у тканинах.

Індекс дозрівання – відсоткове співвідношення парабазального шару/проміжного шару/поверхневих клітин/рогових перлин. Цей показник оцінює ступінь диференціювання та повноту дозрівання епітелію. Для відділів слизової оболонки порожнини рота він у нормі зміщений порівняно зі слизовими оболонками інших органів.

За результатами наших досліджень, індекс дозрівання епітеліальних клітин пародонта на стадії початкових клітинних ушкоджень або молекулярних змін дорівнював (1,6 ± 0,1) ($P \leq 0,05$) / (57,22 ± 6,96) / (11,41 ± 3,76) ($P \leq 0,05$) / (33,11 ± 3,45) % (норма за літературними даними – 0/60/8/32), n =11.

Під час запалення пародонта індекс дозрівання (ушкоджені клітини) змінюється і становить (15,46 ± 7,48) ($P \leq 0,05$) / (23,61 ± 8,11) % ($P \leq 0,05$).

Стадію тканинних ушкоджень пародонта можна поділити на дві підстадії – первинну та вторинну – залежно від морфологічних змін в епітелії ясен та ступеня тяжкості ушкодження клітин. Індекс дозрівання при первинних тканинних змінах практично не змінився порівняно зі стадією клітинних ушкоджень і дорівнював при первинних змінах (2,54 ± 1,07) ($P \leq 0,01$) / (68,2 ± 7,13) ($P \leq 0,001$) / (34,13 ± 3,01) / (9,47 ± 2,17) % ($P \leq 0,05$); при вторинних – (1,37 ± 0,38) / (66,1 ± 5,27) / (33,19 ± 3,21) ($P \leq 0,01$) / (10,23 ± 1,43) % ($P \leq 0,05$).

Первинні зміни на мікроскопічному рівні відбуваються на 2 – 5-ту доби. Спостерігається незначна лейкоцитарна інфільтрація. У ділянці запалення виявляється незначне зменшення власної пластинки, що підтримує епітелій на 7 % порівняно з інтактним пародонтом ($P \leq 0,05$). Залучається до патологічного процесу не більше 5 – 10 % власної пластинки тканини ясен. Виявляється класичний васкуліт прилеглих до прикріпленого епітелію судин.

Вторинні зміни характеризувалися такими самими ознаками, що й на першій стадії, однак вони більш виражені. Переважає формування щільного лімфоцитарного інфільтрату в сполучній тканині ясен, що свідчить про існування імунного механізму ушкодження. Велика кількість малих і середніх лімфоцитів скупчується безпосередньо під прикріпленим епітелієм. Ці клітини є основними клітинами, що характеризують запальну відповідь на цій стадії. За рахунок епітеліальної проліферації приєднаний епітелій та епітелій борозни формують вирости у товщу сполучної тканини (rete ridges). Поблизу лімфоцитів спостерігається велика кількість пошкоджених фібробластів. У ділянці запалення відбувається набряк власної пластинки різного ступеня. З часом відзначається значне накопичення запальних клітин та ексудату.

Деструктивні ушкодження виникають унаслідок посилення тканинних змін. Ознаки запальної реакції, що відзначалося на перших етапах, зберігаються на фоні посилення ушкодження тканин. Триває репаративна компенсаторна зміна проліферації прикріпленого епітелію та епітелію борозенки. Індекс дозрівання під час деструктивних змін дорівнював (2,77 ± 1,30) / (76,80 ± 9,26) ($P \leq 0{,}01$) / (41,19 ± 21,50) ($P \leq 0{,}001$) / (1,19 ± 0,72) %. Товщина епітеліального шару відрізнялася в різних ділянках, спостерігалися ерозії. Запальна клітинна інфільтрація відмічалася уздовж судин і між колагеновими волокнами у ділянці ушкодження.

Проліферативна активність є провідним фактором у механізмі трансформації і біологічної поведінки клітин пародонта під час його запалення. Епітелій ясен при цьому часто проліферує та утворює (rete ridges). У цьому плані найбільш поширеним і перспективним маркером проліферації є антиген Ki-67, що експресується практично в усіх фазах мітотичного циклу і відповідно відображає величину проліферації клітин.

У результаті проведених досліджень було встановлено, що епітелій ясен у нормі експресує Ki-67. Кількість Ki-67 + -клітин невелика, але найбільш виразна експресія спостерігалася лише в клітинах базального та парабазального шарів і становила (95,3 ± 1,23) % (рис. 23). Розміщення цих клітин рівномірне і не має певних закономірностей. Крім того, траплялися поодинокі Ki-67+ -клітини в шипуватому шарі.

Кількість Ki-67 + клітин у з’єднувальному епітелії становила (98,2 ± 0,91) % і виявлялася у всіх шарах.

Під час аналізу експресії маркера проліферації Ki-67 у тканинних зрізах під час запалення було виявлено тенденцію до її посилення (рис. 24).

У хворих із запаленням пародонта експресія Ki-67 у шипуватому шарі відрізняється від групи порівняння і становить (22,58 ± 3,81) % ($p < 0{,}05$), тоді як у інтактних тканинах вона становить лише (2,43 ± 0,42) %.

Проліферативна активність клітин епітелію в rete ridges спрямована в запальний осередок із клітинними інфільтратами, це свідчить про те, що Кі-67 є незалежним додатковим прогностичним маркером прогресування запалення (рис. 25).

Епітелій ясенної борозни також експресує Кі-67. Експресія в клітинах базального та парабазального шарів становить (97,8 ± 0,67) %.

У хворих із проліферативними тяжами величина відносної площі експресії антигену Кі-67 в епітеліоцитах удвічі перевищувала аналогічні показники хворих з їх відсутністю і дорівнювала (42,73 ± 1,56) % порівняно з (19,33 ± 2,92) % ($p < 0,05$).

Таким чином, результати дослідження свідчать про відсутність статистично значущих відмінностей у показниках величини відносної експресії антигену Кі-67 у ядрах базального шару як під час запалення, так і за його відсутності – ($p > 0,05$) (табл. 4).

Таблиця 4 – Показники відносної площі експресії антигену Кі-67 у ядрах епітеліоцитів

Шар епітелію	Запалення	Інтактний пародонт
Базальний	(96,6 ± 2,12) %	(95,3 ± 1,23) %
Шипуватий	(22,58 ± 3,81) %, $p < 0,05$	(2,43 ± 0,42) %
Зернистий	(1,32 ± 0,23) %	(0,21 ± 0,02) %

Для розуміння морфогенетичних та патогенетичних механізмів у розвитку та прогресуванні пародонтитів істотне значення відводиться визначенню рівня експресії репаративного ензиму MGMT у клітинах тканин пародонта.

О6-Метилгуанін-ДНК-метилтрансфераза (MGMT, АГТ) – основний ензим, який видаляє метильні та алкільні групи з нуклеотидів ДНК, що утворюються під впливом різноманітних алкілувальних речовин. Вони призводять до хибного розпізнавання таких нуклеотидів під час подальшої реплікації та виникнення мутацій. Якщо останні зн аходяться у генахпротоонкогенах чи генах-онкосупресорах, то відбувається онкотрансформація клітини, але здебільшого мутації активують механізми апоптозу і вони гинуть [58, 59].

Порушення процесу реплікації ДНК, що відбувається при модифікації азотистих основ, призводить до генетичної нестабільності та прогресування патологічного процесу [60].

З'ясовано, що ядра клітин кісткової тканини інтактного пародонта експресували MGMT на рівні (98,27 ± 2,06) % (рис. 26). Середнє значення MGMT «+» ядер шарів епітелію ясен становило (72,72 ± 3,67) %. MGMT «+» ядра клітин фіброзної тканини періодонтальної щілини виявилися лише у (43,21 ± 4,87) %. Кількість острівців Малясе з MGMT «+» ядрами становила (55,09 ± 4,12) %. Рівень MGMT під час запалення пародонта постійно знижувався, що свідчить про гальмування репаративних відновних процесів у тканинах пародонта при запальній реакції в його тканинах.

Початкові клітинні ушкодження у парабазальному шарі епітелію тканин пародонта мали тенденцію до підвищення репаративного ензиму MGMT, рівень якого досягав (85,71 ± 5,7) % ($P < 0,05$). Кількість MGMT «+» – ядер клітин проміжного шару залишалася сталою порівняно з інтактним пародонтом і дорівнювала (71,32 ± 3,73) % ($P > 0,05$). Поверхневий шар ясенного епітелію мав дещо знижені показники MGMT позитивних «+» – ядер, які досягали (61,22 ± 2,71) % при $P < 0,05$ (рис. 27). Кількість MGMT «+» ядер клітин кісткової тканини не змінювалася та зберігалася на високому рівні – (95,89 ± 1,82) %.

Фіброзна тканина періодонтальної щілини на всій її довжині дослідження мала різні рівні експресії MGMT «+» – ядер початкових пошкоджень. Верхня та середня третини періодонта характеризувалися зменшенням MGMT «+» – ядер фібробластів. У клітинах верхньої третини періодонтальної щілини цей показник становив (12,47 ± 3,57) % $P \geq 0,05$. У клітинах середньої третини періодонта

MGMT «+» – ядра становили (32,47 ± 5,24) % $P \geq 0,05$. Підвищений рівень MGMT «+» – ядер відмічався у нижній третині періодонтальної щілини – (57,86 ± 10,86) %. Епітеліальні острівці Малясе мали сталий рівень MGMT – клітин з «+» ядрами – (51,26 ± 7,33) %.

Стадія глибоких клітинних ушкоджень не виявила чіткої картини різких змін кількості MGMT «+» ядер клітин тканин пародонта під час його запалення. Епітелій характеризувався основними змінами у проміжному та поверхневому шарах клітин. Поверхневий шар мав (54,68 ± 1,71) % ($P \geq 0,05$) MGMT – позитивних клітин. Проміжний шар – (41,35 ± 2,75) % ($P \geq 0,01$) MGMT – позитивних клітин. Парабазальний шар показав стале значення MGMT – позитивних клітин на рівні (70,03 ± 9,85) %. Кісткова тканина за кількістю MGMT – позитивних клітин була на рівні інтактного пародонта і досягала (98,25 ± 3,52) %. Фіброзна тканина періодонтальної щілини під час клітинних пошкоджень характеризувалася такими самими змінами, як і при початкових пошкодженнях. Верхня третина періодонтальної щілини мала (15,55 ± 2,17) % MGMT «+» – ядер. Середня третина виявляла (29,89 ± 5,87) % ($P \geq 0,05$) MGMT «+» – ядер. Сталий рівень MGMT «+» – ядер спостерігався у нижній третині періодонтальної щілини – (48,23 ± 6,25) %. В епітеліальних острівцях Малясе відзначався підвищений рівень MGMT «+»клітин – 63,28 ± 5,76%.

Залежно від експресії MGMT ми також виділили поділ тканинних пошкоджень на початкові й тяжкі. Початкові тканинні зміни характеризувалися сталою кількістю MGMT «+» -клітин у проміжному та поверхневому шарах епітелію щодо клітинних пошкоджень, однак порівняно з інтактним пародонтом спостерігалося значне зниження рівня MGMT у проміжному шарі до (43,52 ± 6,78) % ($P < 0,05$), у поверхневому шарі – до (55,82 ± 3,5) % ($P < 0,05$) (рис. 28).

Парабазальний шар зберігав високий рівень MGMT «+» – клітин і досягав (65,31 ± 5,87) %. Кісткова тканина також відображала високий сталий вміст MGMT «+» – клітин з незначною тенденцією до зниження – (92,53 ± 4,21) %.

Значних кількісних змін MGMT «+» – клітин зазнала верхня третина періодонтальної щілини, де їх кількість зменшилася до (9,03 ± 1,78) % ($P \leq 0,001$). Середня та нижня третини періодонтальної щілини та острівці Малясе мали досить високу кількість MGMT «+» – клітин, що перебували на рівні початкового пошкодження та становили відповідно (29,89 ± 5,87) % ($P < 0,05$), (48,23 ± 6,25) % ($P < 0,05$), (63,28 ± 5,76) % ($P < 0,01$).

Під час тяжкого тканинного ушкодження спостерігалося значне зниження MGMT «+» – клітин у всіх тканинах, крім кісткової, де цей показник був на рівні (95,77 ± 0,98) %. Епітеліальна тканина характеризувалася найбільшим зниженням MGMT «+» – клітин у проміжному шарі, де їх кількість становила лише (2,1 ± 1,71) %. Парабазальний і поверхневий шари містили відповідно (10,24 ± 2,71) ($P < 0,01$) та (5,26 ± 1,14) % ($P < 0,01$) MGMT «+» – клітин. Фіброзна тканина періодонтальної щілини при тяжкому тканинному пошкодженні відображала рівномірне зниження кількості MGMT «+» – клітин щодо інтактного пародонта. Так, верхня третина мала (14,33 ± 4,70) % ($P < 0,01$) таких клітин, що вище від початкових пошкоджень. Середня та нижня третини характеризувалися наявністю MGMT «+» - клітин на рівні (25,78 ± 4,72) ($P < 0,05$) та (21,80 ± 3,26) % ($P < 0,05$) відповідно. Практично вдвічі знизився рівень MGMT «+» – клітин в острівцях Малясе та дорівнював (31,50 ± 7,20) % ($P < 0,05$).

Зниження MGMT «+» – клітин до (71,34 ± 5,38) % ($P < 0,05$) спостерігалось у кістковій тканині під час хронізації ушкодження з приєднаним запальним компонентом. Усі шари епітелію та острівці Малясе характеризувалися MGMT «-» – клітинами. Фібробласти фіброзної тканини верхньої третини періодонтальної щілини практично характеризувалися відсутністю MGMT «+»клітин – (1,57 ± 0,36) %. Удвічі знизився рівень MGMT «+» – клітин у середній та нижній третинах періодонтальної щілини і становив відповідно (10,27 ± 3,85) ($P < 0,05$) та (9,55 ± 1,71) % ($P < 0,05$).

Тяжке ураження зі вторинною альтерацією характеризувалося відсутністю MGMT «+» – клітин у всіх тканинах, крім кісткової, та парабазального шару епітелію, де показник був на рівні (73,21 ± 4,81) ($P < 0,05$) і (15,21 ± 4,03) % ($P < 0,05$) відповідно.

Прогресуюче некротичне ушкодження характеризувалося лише незначною кількістю MGMT «+» – клітин у парабазальному шарі епітелію – (10,23 ± 2,98) %. Кількість MGMT «+» – клітин в інших тканинах практично не було.

Зміна характеру експресії MGMT тканин пародонта свідчить про місцеві розлади у тканинах пародонта. Зокрема, експресія MGMT є наслідком локальних метаболічних порушень різного генезу. Рівень експресії ензиму в нормі та патології наведений у таблиці 5.

Для вивчення молекулярно-біологічних аспектів розвитку пародонтиту проводився аналіз рівня експресії MMP-1 як одного з додаткових прогностичних факторів. Адже відомо, що MMP-1 є маркером.

Матрикс метилпротеїнази MMP, група цинковмісних прот еїнів, що нараховують 25 різних білків, беруть участь у руйнації колагену. MMP -1, -8, -13 є колагеназами, MMP-2, -9 – желатиназами, MMP-3, -10 – стромалізиназами, MMP-7, -26 – метилсинтетазами, MMP-14, -1, -7, -24 – мембранними типами [61]. MMP-1 в активному вигляді руйнує колаген, він експресується у великій кількості в різних видах пухлин та стромальних клітинах у нормі. Колаген IV типу відіграє ключову роль у структурі базальної мембрани. Неактивна форма MMP -1 має вагу 72 кДа, активна – 62 кДа. Перехід із неактивної в активну форму здійснюється під впливом арма (p-Aminophenylmercuric acetate) [62]. Інгібування активованого MMP -1 здійснюється за допомогою TIMP-2 [63, 64]. Значна кількість MMP -1 білка синтезується при гепатиті С [65]. Фундаментальними дослі дженнями доведена роль MMP-1 у процесах різноманітного запалення, атеросклерозі та тромбоутворенні [66]. Пелт та ін. (2002 р.) довели, що бактерія *Prevotella intermedia* здатна індукувати вироблення активаторів *MMP* остеобластів пародонта миші [67]. За результатами експерименту [68] виявлений тримолекулярний вплив MT1-MMP/TIMP2/MMP2 на агрегацію тромбоцитарних пластинок.

Таблиця 5 – Рівень експресії MGMT у тканинах пародонта в нормі та під час запалення

0

Стадія / Тканина	Інтактний пародонт			Тканинне ушкодження: початкові	Тканинне ушкодження: тяжкі		Деструктивне	
Парабазальний шар епітелію	75,31 ± 7,83	85,71 ± 5,7	70,03 ± 9,85	65,31 ± 5,87	10,24 ± 2,71			
Проміжний шар епітелію	72,84 ± 2,78	71,32 ± 3,73	41,35 ± 2,75	43,52 ± 6,78	2,1 ± 1,71		0	
Поверхневий шар епітелію	70,33 ± 3,24	61,22 ± 2,71	54,68 ± 1,71	55,82 ± 3,5	5,26 ± 1,14		0	
Кісткова тканина	98,27 ± 2,06	95,89 ± 1,82	98,25 ± 3,52	92,53 ± 4,21	95,77 ± 0,98		0	
Фіброзна тканина верхньої третини періодонтальної щілини	41,56 ± 7,83	12,47 ± 3,57	15,55 ± 2,17	9,03 ± 1,78	14,33 ± 4,70		71,34 ± 5,38	
Фіброзна тканина середньої третини періодонтальної щілини	44,37 ± 2,10	32,47 ± 5,24	29,89 ± 5,87	31,91 ± 2,72	25,78 ± 4,72		1,57 ± 0,36	
Фіброзна тканина нижньої третини періодонтальної щілини	43,71 ± 1,74	57,86 ± 10,86	48,23 ± 6,25	51,71 ± 2,34	21,80 ± 3,26		10,27 ± 3,85	
Острівці Малясе	55,09 ± 4,12	51,26 ± 7,33	63,28 ± 5,76	57,89 ± 7,23	31,50 ± 7,20		9,55 ± 1,71	

Тяжке зушкодженнявториннооюальтерацією	Прогресуюченекротичнеушкодження
15,21 ± 4,03	10,23 ± 2,98
0	0
0	0
73,21 ± 4,81	0
0	0
0,89 ± 0,09	0
0,97 ± 0,12	0,24 ± 0,05
1,72 ± 1,00	0,78 ± 0,06

У контролі відзначено відсутність або незначний рівень експресії ММР-1. Рисунки 29, 30 відображають експресію ММР-1 та колагену у власній пластинці ясен.

На рисунку 31 показана підвищена експресія ММР-1 в епітеліальних шарах і лейкоцитарна інфільтрація в пародонті у хворих з атеросклерозом. Запалення пародонта сприяє експресії ММР-1 епітеліальними клітинами. ММР-1 поширюється на власну пластинку. Підвищена активність ММР-1 може пояснити зміни колагену у власній пластинці (рис. 32).

Експресія ММР-1 у тканинах пародонта у хворих з атеросклерозом була підтверджена наявністю коричневих забарвлень цитоплазми епітеліальних шарів і лейкоцитарної інфільтрації. Загалом фарбування ММР-1 було більш інтенсивним у базальному шарі клітин. ММР-1 у зразках шарів епітелію під час запалення досягав (95,80 ± 2,43) % ($p < 0{,}001$). У власній пластинці слизової оболонки з лейкоцитарною інфільтрацією рівень експресії ММР-1 становив (41,21 ± 3,86) % ($p < 0{,}05$).

Експресія ММР-1 у хворих із запаленням пародонта без атеросклеротичних змін виражена незначно. Рисунок 33 відображає експресію ММР-1 в епітеліальних шарах і дорівнює (35,10 ± 4,89) % ($p < 0{,}05$). Позитивні ММР-1-клітини спостерігались також у лейкоцитарних інфільтратах – (48,23 ± 5,24) % ($P < 0{,}05$). Експресія ММР-1 була більш інтенсивною в базальному шарі клітин. Рисунок 34 відображає зміни колагену у хворих із запаленням без атеросклеротичного ураження.

Остеопонтин, відомий як OPN, T-lymphocyte activation-1, Eta-1, являє собою глікофосфопротеїн з імунорегулювальною, тканиноремоделювальною функціями у кістковій тканині. Він стимулює клітинний ріст у нормі та диференціацію пухлин при патології. Остеопонтин являє собою невеликий ліганд системи small integrin-binding ligand N-linked glycoprotein (SIBLING), складовими цього сімейства є кістковий сіалопротеїн BSP, зубчастий матрикс-протеїн DMP1, зубчастий сіалофосфопротеїн (DSPP), енамелін

(ENAM) та матрикс-екстрацелюлярно-фосфоглікопротеїн MEPE. Маса активного остеопонтину становить 31 кДа, неактивна форма значно важча – 75 кДа.

Остеопонтин (OPN) експресується в тканинах нирки, кровоносних судинах, активних макрофагах, лімфоцитах та епітеліальних клітинах [69].
OPN у кістковій тканині стимулює адгезію остеокластів та, як наслідок, впливає на резорбцію кісткової тканини. У фундаментальних експериментах [70] на мишах із дефіцитом остеопонтину дослідники спостерігали синовіальну гіперплазію, мононуклеарну клітинну інфільтрацію в органах і системах, ерозії та карієс кісток, деструкцію хрящової тканини. Істотний вплив OPN на метаболізм кісткової тканини проявляється тим, що він інгібує збереження мінеральних речовин у кістковій тканині. OPN є одним із найважливіших неколагенових білків кісткової тканини. OPN -стимуляція остеобластів призводить до появи експресії білка CD44 [71, 72].

Для з’ясування участі Т-лімфоцитів та лейкоцитів у патогенезі пародонтиту ми вивчали імуногістохімічно експресію OPN в епітелії та кістковій тканині. Здатність Т-клітин та моноцитів адгезуватися до OPN підтверджує гіпотезу, що OPN збільшує адгезію Т-клітин та моноцитів порівняно з нормальною тканиною. Імуногістохімічні дослідження (рис. 35) засвідчили, що OPN експресується епітелієм значно сильніше під час запалення – (46 ± 5,3) % ($p < 0,05$), тим самим стимулюючи адгезію Т-клітин та моноцитів більше, ніж нормальний епітелій, де експресія цього білка становить лише (15 ± 1,23) %. Це свідчить, що OPN – потужний субстрат для адгезії Т-клітин та моноцитів при пародонтитах. Клітинна запальна інфільтрація має 100 % позитивну експресію OPN (рис. 37 А). Експресія OPN була однаковою для всіх груп хворих незалежно від соматичної патології та проявлялася посиленням експресії від зернистого шару д о базального. Зернистий шар мав (15,28 ± 3,34) % позитивних клітин, шипуватий – (56,77 ± 8,53) %, базальний – (66,80 ± 7,30) % (рис. 36).

Кісткова тканина також мала значний та сталий рівень експресії OPN, що не змінювався залежно від напрямку запалення пародонта чи соматичної патології (рис. 37) і досягав 100 % позитивних клітин. Резорбція кісткової тканини, викликана запальним процесом та надлишковою експресією MMP-1, не змінювала рівня OPN у цій тканині.

Антитіла класу IgG відіграють важливу роль у забезпеченні тривалого гуморального імунітету при запаленні. Ми спостерігали IgG-позитивні тканини, що містили більше 10 % IgG-позитивних клітин і мали мембранну (епітелій на рис. 38) та мембранно-цитоплазматичну (інфільтрат) ДАБ-реакції. Доволі часто наявна інтенсивна мембранно-цитоплазматична IgG-реакція інфільтрату. Це підтверджує той факт, що IgG – це основні антитіла CD79A-клітин, що забезпечують вторинну імунну відповідь на більшість антигенів у людини.
Однак ми спостерігали в запальних клітинах поодиноку ядерну реакцію, яку розцінювали як хибну. Всі інші випадки ми поділили на три групи: 1-ша група – реакція епітелію та інфільтрату; 2-га група – реакція лише інфільтрату; 3-тя група – реакція лише епітелію.

Перша група характеризувала здебільшого хронічне запалення – 38 випадків (40,4 %). Друга група представляла випадки загострення хронічного запалення – 33 випадки (35,1 %). До третьої групи були включені хворі на стадії ремісії запального хронічного процесу у пародонті – 23 випадки (24,4 %). Частина В-клітин у ході запального процесу переключається з продукції М-імуноглобулінів на продукцію імуноглобулінів інших класів (IgG). Підґрунтям зміни ізотипу антитіл при вторинній імунній відповіді є перехід гострого запалення в хронічне. Синтез IgG та їх концентрація у міжклітинному просторі мають тенденцію до зростання при хронізації запалення.

Імуноглобуліни класу G мають відносно невелику молекулярну вагу – близько 150 кДа і тому єдині з усіх імуноглобулінів проникають через епітелій, таким чином забезпечуючи пасивний імунітет.

Під час дослідження пародонта при його запаленні відмічалася експресія IgM, що є еволюційно найбільш давнім класом антитіл. Імуноглобуліни класу М (IgM) переважно забезпечують первинну імунну відповідь. У дослідженнях, які ми провели, встановлено, що реакція в кожному випадку індивідуальна. Це залежить від кількісного та якісного складу інфільтрату і стадії запального процесу.

Результати імуногістохімічного аналізу експресії IgM ми також поділили на три групи: 1-ша група – реакція епітелію та інфільтрату; 2-га група – реакція лише інфільтрату; 3-тя група – реакція лише епітелію (рис. 39).

Перша група характеризувала здебільшого загострення хронічного запалення – 43 випадки (45,7 %). Друга група характеризувала переважно хронічне запалення – 30 випадків (31,9 %), третя група свідчила про ремісію запалення – 21 випадок (22,3 %).

Ми спостерігали значне підвищення IgM у тканинах пародонта при загостренні запального процесу. На нашу думку, це пов’язано з активацією фагоцитозу та елімінацією збудника з пародонтального кармана. У гострий запальний період IgM не проникає у тканини пародонта через високу молекулярну вагу.

Підвищений вміст IgM у тканинах пародонта пов’язаний з їх синтезом клітинами запального інфільтрату та епітелію (рис. 39) та є діагностичним критерієм перебігу запального процесу.

Первинна імунна відповідь при запаленні пародонта пов'язана переважно з IgM-антитілами (на відміну від вторинної, в якій беруть участь переважно антитіла класу IgG).

За морфологічними особливостями: формою та розміром клітин, сегментованістю ядра, хроматофільністю цитоплазми, наявністю і характером цитоплазматичних включень у вогнищі запалення пародонта ми виділили 4 основних види лейкоцитів: нейтрофіли, лімфоцити, моноцити, гранулоцити. У проведених дослідженнях ми використовували маркери CD3, CD79, MPO, CD68 для ідентифікації відповідних клітин запального інфільтрату.

МРО-антитіло використовувалося для ідентифікації нейтрофілів. Трапляються два морфологічних типи нейтрофілів у тканинах пародонта: паличкоядерні (більш молоді) та сегментоядерні (зрілі) нейтрофіли, патерном експресії яких є цитоплазма з МРО. Поява масивної нейтрофільної інфільтрації у тканинах пародонта свідчить про наявність загострення запального процесу.

Кількість нейтрофілів у тканинах пародонта при запаленні швидко збільшується за рахунок мобілізації зрілих клітин з пулу судинного русла. МРО-позитивні клітини серед загальної кількості лейкоцитів становили від 40 до 83 % при загостренні запалення (рис. 40).

Хронізація запального процесу характеризувалася зменшенням кількості МРО-позитивних клітин і становила від 23 до 53 % за рахунок переважання інших форм лейкоцитів.

У тканинах пародонта моноцити диференціюються в органо- і тканиноспецифічні макрофаги. Тривалість життя таких тканинних макрофагів різна залежно від того, яку функцію вони виконують.

Моноцити у тканинах пародонта бувають різної кількості, активності та розміру. Моноцитарна популяція у пародонті бере участь у формуванні та регуляції імунної відповіді, виконуючи функцію презентації антигену. Для вивчення морфології та активності макрофагів і моноцитів ми використовували антитіла до CD68 та S100.

Різні члени сімейства білків S100 пов'язані з пародонтитом. Кілька досліджень засвідчили, що гетеродимер S100A8 або S100A9, названий кальцій-протектором і мієлоїдним білком, може бути маркером для прогнозування та перебігу запалення. У дослідженнях Nakamura та ін. [73] кількість s100a8 значно корелює з глибиною пародонтальних карманів і на цей час є біомаркером пародонтиту поряд із колагеназою, інтерлейкіном-1β і простагландином Е2. S100A8 був ідентифікований як один з основних білків хронічного перебігу пародонтиту [74], а рівень S100A8 був значно вищий у запаленій тканині ясен, ніж у нормальній [75]. Існує зв'язок між рівнями біомаркерів S100A8 і S100A9 у плазмі крові й тяжкістю перебігу пародонтиту [76].

Враховуючи те, що моноцити та макрофаги проявляють виражену фагоцитарну і бактеріоцидну активність, патерном експресії маркерів CD68 та S100 є цитоплазма цих клітин. Клітини моноцитарного ряду з’являються у вогнищі запалення після нейтрофілів і проявляють максимум активності у кислому середовищі, в якому нейтрофіли втрачають свою функцію (рис. 41).

Кількість CD68-позитивних клітин збільшується при хронічному запаленні і становить від 21 до 47 % від загальної кількості лейкоцитів, але збільшення кількості S100 позитивних клітин є дещо меншим – від 12 до 31 % (рис. 44). На нашу думку, при хронічному перебігу запалення пародонта кількість активних клітин моноцитарного ряду пов’язана з багатьма їх функціями, що в окремих випадках призводить до зменшення експресії білків групи S100. У вогнищі запалення макрофаги фагоцитують мікроорганізми, а також загиблі лейкоцити, пошкоджені клітини запаленої тканини пародонта, усувають осередок запалення і готують його для регенерації. Ми неодноразово спостерігали великі багатоядерні (кількість ядер близько 7) CD68-позитивні клітини, але їх кількість була незначною та не перевищувала 3 % від загальної кількості CD68 - позитивних клітин у вогнищі запалення (рис. 42). Це підтверджує можливість злиття клітин моноцитарного походження при запаленні. Багатоядерні моноцитарні клітини переважали при хронічному запальному процесі та локалізувалися здебільшого субепітеліально.

CD68- позитивні клітини серед загальної кількості лейкоцитів при гострому запаленні становили від 9 до 17 %. Активність моноцитарних клітин відповідно до кількості S100-позитивних клітин становила від 10 до 20 % від загальної кількості лейкоцитів (рис. 43).

Різні субпопуляції лімфоцитів виконують різні функції. Тому ми за допомогою специфічних маркерів CD3 та CD79A визначали наявність Т- та В-клітин в інфільтраті при запаленні пародонта.

За допомогою антитіл до CD3 були ідентифіковані Т-лімфоцити, патерном експресії яких є мембрана та цитоплазма клітин. Проведені дослідження засвідчили, що у вогнищі запалення пародонта Т- лімфоцити розміщені здебільшого дифузно (рис. 45), інколи поодинокі клітини входять до складу вузлів нодулярного інфільтрату.

За рахунок підрахунку CD3-позитивних клітин при збільшенні × 400 установлено, що вони становили від 10 до 17 % від загальної кількості лейкоцитів відповідно при гострому та хронічному запаленні. Результатами проведених спостережень установлена наявність мігруючих CD3-позитивних лімфоцитів через епітелій ясен (рис. 45).

За допомогою маркера CD79A були ідентифіковані В-лімфоцити, що знаходилися переважно субепітеліально і складали основну частину нодулярного типу інфільтрату. Це, на нашу думку, пов’язано з функцією лімфоцитів як «клітин пам'яті», оскільки вони зберігають інформацію про антиген. Вони швидко проліферують при повторній зустрічі з відомим антигеном і продукують велику кількість антитіл. Лімфоцити мають здатність синтезувати і секретувати при запаленні різні класи Ig, що й призводить до утворення нодулярного типу інфільтрату. При підрахунку їх кількості В -
лімфоцити становили 92–87 % інфільтрату нодулярного вузла та 25 – 34 % від загальної кількості лейкоцитів у дифузному інфільтраті при гострому запаленні пародонта. При хронічному запаленні їх кількість збільшується і наближається до 53 % від загальної кількості лейкоцитів (рис. 47).

Необхідно зазначити, що CD3 та CD79A відображають відносні рівні лейкоцитів різних видів, і збільшення або зниження відсоткового вмісту їх може бути як абсолютним, так і відносним. Середні значення їх кількості та стандартне відхилення наведені в табл. 6.

Таблиця 6 – Показники експресії досліджуваних маркерів

Маркер	N	Maen	Min	Max	S.D.
IgG-інфільтрату	94	28,12766	0	98,0	27,48
IgG-епітелій	94	37,44681	0	98,0	31,66
IgM-інфільтрату	94	36,89362	0	98,0	30,05
IgM-епітелій	94	32,37234	0	98,0	33,45
CD68	94	25,34043	1,0	47,0	12,60
S100	94	22,89362	0,	45,0	12,07
HSP90AA1	94	93,29787	0	100,0	18,70
VEGF	94	43,08511	0,0	95,0	23,49
CD3	94	13,52128	10,0	19,0	2,73
CD79A	94	33,71011	5,5	73,2	14,12
MPO	94	46,75532	5,0	97,0	20,41

При імуногістохімічному дослідженні VEGF патерном експресії рецептора є ендотелій судин та клітини інфільтрату. VEGF експресується у цитоплазмі клітин. Виявлено, що в процесі оцінювання ендотелій судин експресував VEGF у 100 %. Траплялися інфільтрати клітин, що не експресували VEGF, здебільшого це спостерігалося при загостренні запалення. При пародонтиті 43 % клітин інфільтрату експресували VEGF (рис. 48). Крім того, ми спостерігали незначну експресію VEGF клітинами сполучної тканини пародонта.

Для з’ясування патогенетичного механізму прогресування пародонтитів ми вивчали експресію білка теплового шоку HSP90AA1 у всіх зразках тканин пародонта з урахуванням функції протеїну (рис. 49). Адже відомо, що запалення безпосередньо призводить до активування білків теплового шоку з подальшою адаптацією тканин до стресу. В результаті дослідження було виявлено, що HSP90AA1 експресується як у ядрі, так і в цитоплазмі; 93 % клітин інфільтрату, епітелію, строми експресували HSP90AA1. Реакція у всіх випадках була сильно позитивною. Результати проведених досліджень наведені у таблиця 6.

Для оцінювання показників експресії IgG-, IgG- епітелію, IgM-, IgM-епітелію, CD68, S100, HSP90AA1, VEGF, CD3, CD79A ми провели кореляційний та багатофакторний аналізи і створили кореляційну матрицю досліджуваних показників експресії (табл. 7).

Таблиця 7 – Кореляційний зв'язок між показниками експресії досліджуваних маркерів при гострому та хронічному запаленні ($P \leq 0{,}05$)

	IgG	IgG епітелій	IgM	IgM епітелій	CD68	S100	HSP90AA1	VEGF	CD3	CD79A	MPO
IgG	1	–0,35	0,32	–0,03	–0,32	–0,35	0	0,17	0,04	0,44	0,38
IgG епітелій	–0,35	1	–0,29	0,25	0,02	0,05	0,15	–0,03	–0,05	0,38	0,11
IgM	0,32	–0,29	1	–0,21	–0,24	–0,29	–0,02	0,33	–0,01	0,4	0,26
IgM епітелій	–0,03	0,25	–0,21	1	–0,19	–0,17	0,15	–0,06	0,12	0,61	0,28
CD68	–0,32	0,02	–0,24	–0,19	1	0,97	–0,15	–0,1	0,07	–0,39	–0,39
S100	–0,35	0,05	–0,29	–0,17	0,97	1	–0,05	–0,14	0,02	–0,4	–0,43
HSP90AA1	0	0,15	–0,02	0,15	–0,15	–0,05	1	–0,06	0,04	0,16	0,2
VEGF	0,17	–0,03	0,33	–0,06	–0,1	–0,14	–0,06	1	0,21	0,21	0,05
CD3	0,04	–0,05	–0,01	0,12	0,07	0,02	0,04	0,21	1	0,06	0,02
CD79A	0,44	0,38	0,4	0,61	–0,39	–0,4	0,16	0,21	0,06	1	0,55
MPO	0,38	0,11	0,26	0,28	–0,39	–0,43	0,2	0,05	0,02	0,55	1

Варіанти комбінацій величин можна подати у вигляді двох факторів, змоделювавши при цьому залежності F-головних факторів від факторних навантажень значень вектора:

$$F1 = CD68 – 0{,}79 + S100 – 0{,}81 + CD79A\ 0{,}79 + MPO\ 0{,}70;$$

$$F2 = IgG\ епітелію – 0{,}76.$$

Тоді узагальнена модель запального процесу у тканинах пародонта буде мати такий вигляд:

$$Y = a_0 + a_1 F1 + a_2 x_2 + \ldots + a_6 x_6,$$

де Y – перебіг запального процесу;

F1 – перший фактор;

ai – власні числа головних компонент.

$$Y = -0{,}11\ F1 + -0{,}76\ F2.$$

Виявити і описати смисловий зв'язок факторів – це є останнім етапом факторного аналізу. Перший фактор вміщує показники клітин інфільтрату – моноцити, В-лімфоцити та нейтрофіли.

На підставі негативних кореляційних коефіцієнтів та беручи до уваги значення змінних, можна припустити вплив показників, що належать до фактора 1 (F1), на результат розвитку пародонтиту. Таким чином, запалення пародонта зменшується зі збільшенням величини окремих показників. Разом із тим необхідно відзначити, що прояви пародонтиту зменшуються при зниженні активності макрофагів. На нашу думку, це пов’язано з їх популяційною (М1-, М2- макрофаги) функцією. Другий фактор характеризується збільшенням рівня IgG в епітелії, внаслідок чого у тканинах пародонта запалення набуває хронічного перебігу.

Список літератури

1. Russell A. L. Epidemiology of periodontal disease / A. L. Russell // Internat. Dental J. – 1967. – Vol. 17. – P. 282–296.

2. Елькова Н. Л. Оценка состояния тканей пародонта у пациентов с нестабильной стенокардией / Н. Л. Елькова, А. А. Зубкова, В. В. Зубков // Человек и здоровье. – 2013. – № 1. – С. 57–61.

3. Онтогенетическая оценка общих механизмов устойчивости организма к патологии зубочелюстной системы / В. В. Колпаков, А. В. Брагин, Л. Н. Евдокимова [и др.] // Рос. стоматол. журн. – 2008. – № 5. – С. 23–26.

4. Курякина Н. В. Изменение показателей общего иммунитета в различные сроки после курса комплексного лечения у больных пародонтитом на фоне сахарного диабета / Н. В. Курякина, О. А. Алексеева // Пародонтология. – 2000. – № 1. – С. 22–25.

5. Relationship between diabetes and periodontal infection / F. Llambés, S. Arias-Herrera, R. Caffesse // World J. Diabetes. – 2015. – Vol. 6, № 7. – P. 927–935.

6. Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association? A scientific statement from the American Heart Association / P. B. Lockhart, A. F. Bolger, P. N. Papapanou [et al.] // Circulation. – 2005. – Vol. 125, № 20. – P. 2520–2544.

7. Oliver R. C. Diabetes – a risk factor for periodontitis in adults? / R. C. Oliver, T. Tervonen // J. Periodontol. – 1994. – № 65. – P. 530–538.

8. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss / S. G. Grossi, J. J. Zambon, A. W. Ho [et al.] // J. Periodontol. – 1994. – № 65. – P. 260–267.

9. The effect of improved periodontal health on metabolic control in type 2 diabetes mellitus. / M. Kiran, N. Arpak, E. Unsal [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2005. – № 32 (3). – P. 266–272.

10. Loe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus / H. Loe // Diabetes Care. – 1993. – № 16 (1). – P. 329–334.

11. Does periodontal care improve glycemic control? / J. A. Jones, D. R. Miller, C. J. Wehler [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2007. – № 34 (1). – P. 46–52.

12. Non-insulin dependent diabetes mellitus and alveolar bone loss progression over 2 years / G. W. Taylor, B. A. Burt, M. P. Becker [et al.] // J. Periodontol. – 1998. – № 69 (1). – P. 76–83.

13. Emrich L. J. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. / L. J. Emrich, M. Shlossman, R. J. Genco // J. Periodontol. – 1991. – № 62 (2). – P. 123–131.

14. Glycemic control and alveolar bone loss progression in type 2 diabetes / G. W. Taylor, B. A. Burt, M. P. Becker [et al.] // Ann. Periodontol. – 1998. – № 3 (1). – P. 30–39.

15. The effect of improved periodontal health on metabolic control in type 2 diabetes mellitus. / M. Kiran, N. Arpak, E. Unsal [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2005. – № 32 (3). – P. 266–272.

16. Mealey B. L. Diabetes mellitus and periodontal disease / B. L. Mealey, G. L. Ocampo // Periodontol. – 2007. – № 44. – P. 127–153.

17. Мазур І. П. Взаємозв’язок стану тканин пародонта, перебігу генералізованого пародонтиту та структурно-функціонального стану кісткової системи / І. П. Мазур // Проблеми остеології. – 2004. – № 1. – С. 44–49.

18. Борисенко А. В. Вплив захворювань пародонта на загальний стан організму / А. В. Борисенко // Здоров`я суспільства. – 2013. – № 1. – С. 32–37

19. Терапевтична стоматологія. Захворювання пародонта / М. Ф. Данилевський, А. В. Борисенко, А. М. Політун та ін. ; за заг. ред. М. Ф. Данилевського; Нац. медичний ун-т ім. О. О. Богомольця. – К. : Медицина, 2008. – 616 с.

20. Бєсов А. В. Металеві сплави для ортопедичної стоматології / А. В. Бєсов // Фізика і хімія твердого тіла. – 2002. – Т. 3, № 4. – С. 647–653.

21. Protein phosphorylation is a regulatory mechanism for O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase in human brain tumor cell / K. S. Srivenugopal, S. R. S. Mullapudi, J. Shou [et al.] // Cancer Res. − 2000. − Vol. 60, № 2. − P. 282−287.

22. Kanugula S. Alkylation damage repair protein O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase from the hyperthermophiles Aquifex aeolicus and Archaeoglobus fulgidus / S. Kanugula, A. E. Pegg // Biochem. J. – 2003. – Vol. 375, № 9, Pt. 2. – P. 449−455.

23. Особенности состояния тканей пародонта у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с Helicobacter pylori / С. Д. Арутюнов, И. В. Маев, Н. В. Романенко [и др.]. // Пародонтология. – 2005. – № 3. – С. 30–33.

24. Еремин О. В. Коморбидность болезней пародонта и желудочно-кишечного тракта / О. В. Еремин, А. В. Лепилин, И. В. Козлова [и др.] // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2009. – № 3. – С. 393–398.

25. Орехова Л. Ю. Клинико-иммунологические и микробиологические параллели при хроническом генерализованном пародонтите и язвенной болезни желудка / Л. Ю. Орехова, Д. М. Нейзберг, И. Ю. Стюф // Стоматология. – 2006. – № 6. – С. 22–26.

26. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis / B. S. Michalowicz, S. R. Diehl, J. C. Gunsolley // J. Clin. Periodontol. – 2000. – Vol. 71. – P. 1699–1707.

27. Oppermann R. V. An overview of the epidemiology of periodontal diseases in Latin America / R. V. Oppermann // Braz. Ora. l Res. – 2007. – Vol. 21 (Spec. Is. 1). – P. 8–15.

28. Baelum V. The epidemiology of destructive periodontal disease: Causes, paradigms, problems, methods and empirical evidence [Doctorate Thesis]. Aarhus: Royal Dental College, Faculty of Dentistry of University of Aarhus, 1998.

29. Borrell R. N. Analytical epidemiology of periodontitis / R. N. Borrell, P. N. Papapanou // J. Clin. Periodontol. – 2005. – № 32, Suppl. 6. – P. 132–158.

30. Trends in oral health status: United States, 1988–1994 and 1999–2004 / B. A. Dye, S. Tan, V. Smith [et al.] // Vital. Health Stat. 11. – 2007. – № 248. – P. 1–92.

31. Periodontal status in relation to age and tooth type. A cross-sectional radiographic study / P. N. Papapanou, J. L. Wennstrom, K. Grondahl // J. Clin. Periodontol. – 1988. – Vol. 15, Is. 7. – P. 469–478.

32. Update of the Case Definitions for Population-Based Surveillance of Periodontitis / P. I. Eke, R. C. Page, L. Wei [et al.] // J. Periodontol. – 2012. – Doi: 10.1902/jop.2012.110664.

33. Papapanou P. N. Periodontal diseases: epidemiology / P. N. Papapanou // Ann. Periodontol. – 1996. – Vol. 1, № 1. – P. 1–36.

34. Cutress T. W. Periodontal health and periodontal disease in young people: global epidemiology / T. W. Cutress // Internat. Dent. J. – 1986. – № 36. – P. 146–151.

35. Anderson R. J. The changes in the dental health of 12-year old schoolchildren in two Somerset schools. A review after an interval of 15 years / R. J. Anderson // Br. Dent. J. – 1981. – № 150. – P. 218–221.

36. Oral health of individuals aged 3–80 years in JoËnkoËping, Sweden in 1973, 1983 and 1993. II. Review of clinical and radiographic findings / A. Hugoson, G. Koch, T. Bergendal // Sw. Dent. J. – 1995. – № 19. – P. 243–260.

37. O'Brien M. Children's dental health in the United Kingdom / M. O'Brien HMSO, London, 1994.

38. Bhat M. Periodontal health of 14- to 17-year-old US schoolchildren / M. Bhat // J. Public Health Dent. – 1991. – № 51. – P. 5–11.

39. Epidemiology of Periodontal Diseases. Academy Report of Research, Science and Therapy Committee of the American Academy of Periodontology // J. Periodontol. – 2005. – № 76. – P. 1406–1419.

40. U.S. Public Health Service, National Institute of Dental Research. Oral Health of United States Adults; National Findings. Bethesda, MD: National Institute of Dental Research, 1987. NIH publication number 87-2868.

41. Cunha A. C. R. Prevalancia de gengivite em crianas de um nevel social baixo / A. C. R. Cunha, L. A. Chambrone // Rev. Periodontia. – 1998. – Vol. 7, № 1. – P. 6–10.

42. National survey of oral health status of children and adults in Turkey / S. G. Gokalp, B. G. Dogan, M. T. Tekcicek [et al.] // Com. Dent. Health. – 2010. – Vol. 27, № 1. – P. 12–17.

43. Periodontal status among adolescents in Georgia. A pathfinder study / L. Levin, V. Margvelashvili, L. Bilder [et al.] // Peer J. – 2013. – № 1:e137; doi 10.7717/peerj.137.

44. Preshaw P. M. Definitions of periodontal disease in research / P. M. Preshaw // J. Clin. Periodontol. – 2009. – № 36. – P. 1–2.

45. Albandar J. M. Epidemiology and risk factors of periodontal diseases / J. M. Albandar // Dent. Clin. North Am. – 2005. – Vol. 49, № 3. – P. 517–532.

46. Validity and accuracy of a risk calculator in predicting periodontal disease / R. C. Page, E. A. Krall, J. Martin [et al.] // J. Am. Dent. Assoc. – 2002. – Vol. 133. – P. 569–576.

47. Methodological issues in epidemiological studies of periodontitis – how can it be improved? / R. Leroy, K. A. Eaton, A. Savage // BMC Oral Health. – 2010. – Vol. 10, № 8. – P. 2–8.

48. Page, R. C. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. / R. C. Page, H. E. Schroeder // Lab. Invest. – 1976. – № 34. – P. 235–249.

49. Колесова Н. В. Особенности нарушения барьерной функции эпителия десны при генерализованном пародонтите / Н. В. Колесова // Соврем. стомаология. – 2001. – № 3. – С. 42–44.

50. Seymour G. J. Conversion of a stable T-cell lesion to a progressive B-cell lesion in the pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: an hypothesis / G. J. Seymour, R. N. Powell, W. I. Davies // J. Clin. Periodontol. – 1979. – № 6. – P. 267–277.

51. Page R. C. Gingivitis / R. C. Page // J. Clin. Periodontol. – 1986. – № 13. – P. 345–355.

52.Grenier D. Response of human macrophage-like cells to stimulation by Fusobacterium nucleatum ssp. Nucleatum lipopolysaccharide / D. Grenier, L. Grignon // Oral Microbiol. Immunol. – 2006. – № 21. – P. 190–196.

53. Cell populations and episodic periodontal attachment loss in humans / U. Zappa, J. Cadosch, C. Simona [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 1991. – № 18. – P. 508–515.

54. Relative proportions of mononuclear cell types in periodontal lesions analyzed by immunohistochemistry / D. F. Lappin, O. Koulouri, A. Radvar [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 1999. – № 26. – P. 183–189.

55. Are cytokines linked to collagen breakdown during periodontal disease progression? / A. L. Ejeil, F. Gaultier, S. Igondjo-Tchen [et al.] // J. Periodontol. – 2003. – № 14. – P. 196–201.

56. Seymour G. J. The immunopathogenesis of progressive chronic inflammatory periodontal disease / G. J. Seymour, R. N. Powell, W. I. Davies // J. Oral Pathol. – 1979. – № 8. – P. 249–265.

57. Sйguier S. Collagen fibers and inflammatory cells in healthy and diseased human gingival tissues: a comparative and quantitative study by immunochemistry and automated image analysis / S. Sйguier, G. Godeau, N. Brousse // J. Periodontol. – 2000. – № 71. – P. 1079–1085.

58. Gerson S. L. MGMT: its role in cancer aetiology and cancer therapeutics / S. L. Gerson // Nat. Rev. Cancer. – 2004. – № 3. – P. 296–307.

59. O6-methylguanine-DNA methyltransferase is downregulated in transformed astrocyte cells: implications for anti-glioma therapies / K. Sasai, T. Akagi, E. Aoyanagi [et al.] // Mol. Cancer. – 2007. – № 6. – P. 36.

60. Protein phosphorylation is a regulatory mechanism for O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase in human brain tumor cell / K. S. Srivenugopal, S. R. S. Mullapudi, J. Shou [et al.] // Cancer. Res. − 2000. − Vol. 60, № 2. − P. 282−287.

61. Structure of human pro-matrix metalloproteinase-2: activation mechanism / R. E. Morgunova, A. Tuuttila, U. Bergmann // Science. 2010. – Vol. 284, № 4. – P. 1667–1670.

62. Basbaum C. B. Focalized proteolysis: spatial and temporal regulation of extracellular matrix degradation at the cell surface / C. B. Basbaum, Z.Werb // Curr. Opin. Cell. Biol. – 1996. – № 8 (5). – P. 731–738.

63. Massova I. Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification / I. Massova, L. P. Kotra, R. Fridman [et al.] // FASEB J. – 1998. – № 12 (12). – P. 1075–1095.

64. Plasma levels of matrix metallo proteinase-2 (MMP-2) and tissue inhibitors of metalloproteinases -1 and -2 (TIMP-1 and TIMP-2) as noninvasive markers of liver

disease in chronic hepatitis C: comparison using ROC analysis / K. M. Walsh, P. Timms, S. Campbell [et al.] // Dig. Dis. Sci. – 1999. – № 44. – P. 624–630.

65. Correlation between spontaneous metastatic potential, platelet-aggregating activity of cell sur-face extracts and cell surface sialylation in 10 metastatic-variant derivatives of a rat renal sar-coma cell line / E. Pearlstein, P. L. Salk, G. Yogeeswaran [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci U S A. – 1980. – № 77. – P. 4336–4339.

66. Effects of lipopolysaccharide extracted from Prevotella intermedia on bone formation and on the release of osteolytic mediators by fetal mouse osteoblasts in vitro / P. Pelt, B. Zimmermann, N. Ulbrich [et al.] // Arch. Oral Biol. – 2002. – № 47. – P. 859–866.

67. Platelet release of trimolecular complex components MT1-MMP/TIMP2/MMP2: involvement in MMP2 activation and platelet aggregation / I. Kazes, I. Elalamy, J. D. Sraer [et al.] // Blood. – 2000. – Vol. 96. – № 1. – P. 3064–3073.

68. Expression of MMP-2, TIMP-2 protein and the ratio of MMP-2/TIMP-2 in gallbladdercarcinoma and their significance / Y. Z. Fan, J. T. Zhang, H. C. Yang [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2002. – № 8 (6). – P. 1138–1143.

69. Coexpression of p53 and Ki 67 and lack of EBV expression in oral squamous cell carcinoma / A. Iamaroon, U. Khemaleelakul, S. Pongsiriwe [et al.] // J Oral Pathol Med. – 2004. – № 33. – P. 30–36.

70. Expression of p53 and Ki-67 antigen in gingival hyperplasia induced by nifedipine and phenytoin / K. Saito, S. Mori, N. Tanda [et al.] // J . Periodontol. – 1999. – № 70. – P. 581–586.

71. Maintenance of genomic integrity by p53: complementary roles for activated and non-activated p53 / N. Albrechtsen, I. Dornreiter, F. Grosse [et al.] // Oncogene. − 1999. − Vol. 18, № 53. − P. 7706−7717.

72. el-Deiry W. S. Regulation of p53 downstream genes / W. S. el-Deiry // Semin. Cancer Biol. − 1998. – Vol. 8, № 5. − P. 345−357.

73. Quantitative analysis of MRP-8 in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease using microbore HPLC / F. T. Lundy, R. Chalk, P. J. Lamey [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2001. – № 28. – P. 1172–1177.

74. Human gingivalcrevicular fluid contains MRP8 (S100A8) and MRP14 (S100A9), two calcium-binding proteins of the S100 family / T. Kojima, E. Andersen, J. C. Sanchez [et al.] // J. Dent. Res. – 2000. – № 79. – P. 740–747.

75. Giant cell tumor of the temporal bone–a case report / S. B. Pai, R. M. Lalitha, K. Prasad [et al.] // BMC Ear Nose Throat Disord. – 2005. – № 5. – P. 5–8.

76. Werner M. Giant cell tumour of bone: morphological, biological and histogenetical aspects / M. Werner // Springer-Verlag. – 2006. – № 30. – P. 484–489.

Епуліси

Досліджуючи епуліси, ми виявили, що макроскопічно цей патологічний процес являє собою гранульоми з осередковим розростанням м'яких тканин, які виступали над рівнем ясен, розміром з вишневу кісточку й більше. Дуже часто епуліс розміщувався на вузькій або широкій ніжці, зверху він був покритий слизовою оболонкою рожевого кольору, як і слизова оболонка ясен, що його оточує.

Згідно з концепцією [1] гранулематозне запалення є варіантом хронічного запалення, при якому в запальному клітинному інфільтраті переважають похідні моноцитів: макрофаги, епітеліоїдні та гігантські багатоядерні клітини. Таким чином, макрофаги є основною морфологічною складовою гранулематозного запалення.

ВООЗ пропонує виділяти гранульоми залежно від виду інфільтрату із зазначенням клітинного складу макрофагів. За ВООЗ, гранульоми поділяють на: а) гістіоцитарні; б) епітеліоподібні малі; в) епітеліоподібні великі (туберкулому); г) фібробластичні; д) гранульоми з центральним некрозом; е) гранульоми з центральним абсцесом. В основу класифікації ВООЗ покладені дані Adams [2]. Терміни «гістіоцитарні гранульоми», «гістіоцит» та «зріла макрофагальна гранульома» не ввійшли до класифікації ВООЗ.

Швидкість обміну клітин усередині гранульоми, показники клітинної кінетики відображені різними морфологічними формами гранульом. Оскільки персистувальний антиген чине шкідливу дію на клітини гранульоми, то останні гинуть, а на їх місці з'являються нові. Інтенсивність такого обміну відображається бактеріальними токсинами, що ушкоджують клітини.

До неімунних відносять більшість гранульом, що утворюються навколо сторонніх тіл, які К. Warren [3] поділяє на неактивні та активні. Неактивні викликаються полімерами, а активні – частинками двоокису кремнію,

оболонкою стрептокока. Доповнення до неімунних гранульом зазначили W. L. Epstein та співавтори [4], які виділили активні гранульоми – цитотоксичні, та неактивні – доброякісні.

У той самий час необхідно підкреслити, що механізми формування гранулематозного запалення тканин пародонта до кінця не розшифровані.

Мабуть, формування «пародонтом» включає поглинання макрофагами імунних комплексів із подальшою активацією зазначених клітин, а також потужною лімфоцитопосередкованою регуляцією.

Фіброзний епуліс

Мікроскопічно фіброзний епуліс (рис. 50) складається з пучків зрілої сполучної тканини (рис. 50 В), розміщених хаотично, з невеликою кількістю кровоносних і лімфатичних судин. Серед сполучнотканинних волокон,

переважно периваскулярно, в більшій або меншій кількості наявні запальні клітинні інфільтрати (рис. 50 А), що складаються із плазматичних і макрофагальних клітин. Поверхня епулісу за типом простої гранульоми покрита багатошаровим плоским епітелієм і нерідко укривається виразками в результаті травми зубів. На початкових стадіях у такому епулісі ми бачимо розвиток молодої грануляційної тканини (рис. 51), багатої на кровоносні капіляри (рис. 51 B) і клітини, з вираженою лейкоцитарною інфільтрацією.

Іноді у простій гранульомі відбувається утворення кісткових балочок (осифікувальний епуліс – рис. 52) – між фіброзними волокнами (рис. 52 D) виникає скупчення остеогенних клітин, серед яких бачимо дрібні ділянки остеоїдної речовини, гомогенно забарвленої та оточеної остеобластами. Далі вони диференціюються в кісткові балочки з наявністю остеоцитів і відкладенням в основній речовині солей кальцію. На периферії в кісткових балочках, як правило, розміщується вузька зона остеоїдної тканини, облямована остеобластами.

Мікроскопічне дослідження ділянки епулісу за допомогою SEM засвідчило наявність волокнистих структур сполучної тканини, що утворюють строму епулісу (рис. 53 A). Строма має чітко контуровані фібробласти, капіляри, незначний набряк, а іноді – ділянки резорбції та утворення кістки.

У ділянках епулісів з утворенням кістки патологічних мітозів у клітинах не виявлено. Епуліс з осифікацією має ознаки кальцифікації за концентричним типом з остеоцитарною мінералізацією. Трапляються ділянки остеоїдної тканини з периферійно розміщеними остеобластами (рис. 54 A) та ознаками посиленої кальцифікації.

Наявність негативного кореляційного зв’язку між T-лімфоцитами (CD3) та гранулоцитарними лейкоцитами (MPO) $r = –0,58$, $p = 0,05$, дає підстави робити висновок про наявність циклічності перебігу запального процесу у фіброзному епулісі з періодами загострення та згасання запального процесу. Це підтверджує фундаментальний постулат: «під час гострого запального процесу переважають гранулоцитарні лейкоцити та нейтрофіли зокрема» [5].

Ще одним фактом, який наводить нас на думку про «хвилеподібний» перебіг запального процесу у фіброзному епулісі, є одержані нами дані, що показують негативний кореляційний зв'язок між клітинами макрофагального походження (CD68) та B-лімфоцитами (CD79A): $r = –0,54$, $p = 0,05$. Реалізація цього механізму, на нашу думку, відбувається таким чином: макрофаги, які виконують фагоцитарну (М1-тип) або репаративну (М2-тип) функцію, призводять до зменшення кількості В-клітин за рахунок макрофагальних цитокінів [6].

Дослідження кореляційного зв'язку між макрофагами (CD68) та їх активністю (S100) ($r = 0{,}93$, $p = 0{,}01$) підтверджує інтенсивність процесу у фіброзному епулісі [7].

Установлено, що основним фактором резорбції є ММР-1, яка продукується гранулоцитарними лейкоцитами (МРО), що підтверджується стійким позитивним кореляційним зв'язком між цими показниками ($r = 0{,}96$, $p = 0{,}001$). Необхідно зазначити, що в результаті проведеного імуногістохімічного дослідження ми виявили негативний кореляційний зв'язок між ММР-1 та кількістю Т- та В клітин ($r = –0{,}59$ та $r = –0{,}74$ відповідно при $p = 0{,}05$). На нашу думку та за результатами досліджень інших авторів [8], це може бути пов'язано з цитотоксичними властивостями ММР-1, що проявляється при її надмірній кількості. Також ми не виключаємо той факт, що продукти каталізу мієлопероксидази потенціюють цитотоксичний ефект, тому не варто недооцінювати цитотоксичний ефект ММР-1. Аналіз кореляційного зв'язку між ММР-1 та р53 слабкий, але позитивний ($r = 0{,}34$, $p = 0{,}05$), що свідчить про запуск апоптозу клітинами при дії на них ММР-1. Ще один негативний ефект дії ММР-1 на лімфоцити В-ряду пов'язаний зі зменшенням кількості IgG та IgM, які безпосередньо продукуються цими клітинами. Цей негативний ефект створює ММР-1, яка продукується епітелієм фіброзного епулісу (IgG-MMP-1, $r = – 0{,}64$, $p = 0{,}05$, та IgM-MMP-1, $r = – 0{,}53$, $p = 0{,}05$).

Посилення ефекту міграції клітин запального інфільтрату сприяє OPN, який продукується епітелієм фіброзного епулісу та сприяє міграції макрофагів і нейтрофільних лейкоцитів, про що свідчать позитивні кореляційні коефіцієнти (OPN – MNO, $r = 0{,}25$, $p = 0{,}05$, OPN – CD68, $r = 0{,}22$, $p = 0{,}05$). Важливим механізмом прогресування фіброзного епулісу є проліферативна активність епітелію, що підтверджується експресією маркера проліферації Кі67. Збільшення кількості клітин інфільтрату призводить до підвищення кількості MMP-1 та OPN епітелієм, що відобразилося у позитивному кореляційному зв’язку між Кі 67 та MMP-1, Кі67 та OPN ($r = 0,69$, $p = 0,05$ та $r = 0,24$, $p = 0,05$) відповідно.

Відомо, що M2-макрофаги виконують репаративну функцію, що зумовлює проліферацію судин та фібробластів [9, 10]. Результати нашого дослідження довели, що макрофаги та епітелій активно беруть участь у ангіогенезі фіброзного епулісу, про що свідчать позитивні кореляційні коефіцієнти між CD68 -VEGF ($r = 0,29$, $p = 0,05$). Експресія VEGF епітелієм призводить до посилення росту судин і, як наслідок, − збільшення міграції всіх видів лейкоцитів у вогнище ураження пародонта. Це відобразилося у кореляційних зв’язках між маркерами лейкоцитів та VEGF, що експресується епітелієм (CD3-VEGF, $r = 0,43$, $p = 0,05$; CD79A-VEGF, $r = 0,24$, $p = 0,05$; MPO-VEGF, $r = 0,27$, $p = 0,05$, CD68-VEGF, $r = 0,30$, $p = 0,05$). Вищезазначений процес є останньою ланкою, що утворює патологічне коло та сприяє росту фіброзного епулісу (рис. 55).

У тканинах пародонта часто виникають вторинні зміни. При травматизації пародонта виникають крововиливи з незрілої судинної сітки, що утворюється вищезазначеним механізмом. Ці судини дуже чутливі до дії різних цитотоксичних чинників. Це підтверджується сильним позитивним кореляційним зв'язком між глікофорином еритроцитів, що накопичується під час крововиливів, та MMP-1 епітелію, який здатний руйнувати колаген судин (Gli-MMP-1, $r = 0,84$, $p = 0,05$).

На підставі проведених досліджень можна стверджувати, що фіброзний епуліс є результатом загоєння запального походження, спричиняє руйнування кістки альвеолярного відростка, при цьому ключову роль у розвитку вищезазначеного патологічного процесу відіграють макрофаги та епітелій, про що свідчать відповідні зв’язки (рис. 55).

Ангіоматозний епуліс

Ангіоматозний епуліс, або епуліс за типом судинної гранульоми, частіше виявляється у жінок.

Макроскопічно такий епуліс був представлений розростанням м'яких тканин ясен червоного кольору, вкритих багатошаровим плоским епітелієм. Характерною клінічною ознакою епулісів за типом судинної гранульоми була кровотеча при незначній травмі.

При мікроскопічному дослідженні цей епуліс характеризувався великою кількістю судин, переважно венозного типу дрібного калібру, інко ли з утворенням судинних озер (рис. 56 А). Між судинами розміщувалися тонкі, іноді більш широкі, прошарки сполучної тканини. Ангіоматозний епуліс за гістологічною картиною мало відрізнявся від капілярної або венозної ангіоми (рис. 56). У сполучнотканинних прошарках спостерігалися клітинні інфільтрати, що складалися переважно з плазматичних клітин, як і у фіброзному епулісі. Дуже часто ангіоматозний епуліс поверхнево укривався виразками з розвитком відповідної до цієї ділянки грануляційної тканини.

SEM-сканограма дає характерну будову ангіоматозного епулісу (рис. 57). Сполучна тканина була представлена волокнисто-клітинною структурою з інтенсивною васкуляризацією. Судинні простори вистелені ендотелієм із розривами та крововиливами (рис. 57 В).

Ми вважаємо, що виникнення і швидкий ріст цих гіперпластичних розростань пов'язані із загальним соматичним статусом, який призвів до порушення гуморальної регуляції проліферативних процесів пародонта.

Гістологічне дослідження ангіоматозного епулісу, який ми вивчали за допомогою стандартного фарбування гематоксилін-еозином та імуногістохімічним методом із використанням антитіл до VEGF, показало наявність високого потенціалу клітин інфільтрату до ангіогенезу. Встановлено, що клітини макрофагального ряду (CD68) продукують VEGF, про що свідчить позитивний кореляційний зв'язок ($r = 0,37$, $p = 0,05$). Ми також спостерігали негативний кореляційний зв'язок між S100 та VEGF, тобто чим більш активний ангіогенез, тим менша активність макрофагальних клітин, про що свідчив кореляційний графік, який ми проаналізували ($r = –0,42$, $p = 0,05$). Водночас макрофаги М2-типу активно беруть участь у формуванні гемангіом, що було доведено у дослідженнях Венгу Ф. (2013 р). Крім того, дослідники довели зв'язок між ангіогенезом та кількістю макрофагів у гемангіомі [11].

При запаленні пародонта ми встановили слабкий позитивний кореляційний зв'язок між проліферативним пептидом Кі 67 та VEGF ($r = 0,24$, $p = 0,05$), що підтверджує проліферацію судин у вогнищі формування ангіоматозного епулісу. Необхідно відзначити той факт, що папіломовірусна інфекція стимулює ріст судин [12].

Антиангіогенетичну дію на судини спричиняє MMP-1, який руйнує колаген судин. Це відобразилося у негативному коефіцієнті кореляції середньої сили між MMP-1 та VEGF ($r = –0,51$, $p = 0,05$), що збігається з літературними даними, які відзначають негативний кореляційний зв'язок між металопротеїназною активністю та процесом пухлинного росту і метастазуванням [13]. Судинний фактор росту, залучений до ангіогенезу, також активує нейтрофіли при запаленні. Підвищена кількість нейтрофілів збільшує секрецію металопротеїназ [14]. Ми також спостерігали подібну закономірність, яка у нашому випадку підтвердилася у позитивному кореляційному зв'язку середньої сили між гранулоцитарними лейкоцитами (MPO) та MMP-1 ($r = 0,51$, $p = 0,05$).

Необхідно звернути особливу увагу на те, що значна кількість еритроцитів та гемосидерину, які знаходилися у міжсудинному та міжкавернозному просторі у вогнищі формування епулісу, обумовлена дією MMP-1 на судини. Глікофорин (Gly), що міститься в еритроцитах, має слабкий позитивний кореляційний зв’язок із VEGF ($r = 0,21$, $p = 0,05$). Цей зв'язок обумовлений вищезазначеним патогенезом. Необхідно врахувати, що ми спостерігали сильний позитивний кореляційний зв'язок глікофорину та IgG ($r = 0,7$, $p = 0,05$) і слабкий позитивний кореляційний зв'язок глікофорину й IgM ($r = 0,21$, $p = 0,05$). Відомо, що

імуноглобуліни беруть активну участь у гемолізі еритроцитів [15, 16]. За безпосередньої участі C3b, IgG та IgM стимулюється процес фагоцитування еритроцитів, що містяться у міжсудинних просторах ангіоматозного епулісу [17].
Т-хелперні клітини у вогнищі запалення здійснюють контроль за кількістю В-клітин та продукцією ними антитіл, кількістю нейтрофілів та макрофагів [18].
Ми спостерігали слабкий позитивний кореляційний зв'язок ($r = 0,29$, $p = 0,05$) між Т-клітинами та В-клітинами; Т-клітинами та гранулоцитарними лейкоцитами ($r = 0,25$, $p = 0,05$). Водночас відзначається сильний негативний кореляційний зв'язок між Т- клітинами та макрофагами ($r = -0,69$, $p = 0,05$).
Таким чином, вищезазначені кореляційні зв’язки доводять Т-клітинну регуляторну функцію в ангіоматозному епулісі [19]. Ендотелій судин продукує OPN у незначній кількості та відповідно сприяє міграції як самих ендотеліальних клітин, так і клітин крові, що доведено слабким позитивним кореляційним зв’язком ($r = 0,21$, $p = 0,05$).

За результатами досліджень ми запропонували схему формування ангіоматозного епулісу з урахуванням вищезазначених зв’язків (рис. 58).

Гігантоклітинний епуліс

Під час макроскопічного дослідження гігантоклітинного епулісу ми виявили, що він являє собою новоутворення округлої форми, яке піднімається над яснами. Він розміщувався на широкій основі, частіше м'якої, іноді щільної консистенції синюшного або буруватого кольору. У ряді випадків такий епул іс досягав великих розмірів; нерідко було видно поверхневі виразки у зв'язку із травматизацією зубами.

Частіше гігантоклітинний епуліс виявлявся у ділянці корінних зубів, переважно на нижній щелепі. Його ріст був спрямований усередину порожнини рота.

Під час мікроскопічного дослідження такого епулісу спостерігалася характерна картина, що була ідентична остеобластокластомі. Частіше за все ми відмічали такі мікроскопічні клітинні елементи остеобластокластоми: гігантські клітини (рис. 59 С) із великою кількістю центрально розміщених ядер та одноядерні клітини з округлими й овальними ядрами. Серед цих клітин можна було бачити еритроцити (рис. 59 В), які вільно лежали в тканинах, що оточують, за межами судинної стінки.

На місці деяких кров'яних острівців утворювалися серозні або кров'яні кісти, які мали невеликий розмір. У периферичних частинах такого епулісу розміщувалися прошарки сполучної тканини.

Серед клітинних елементів у сполучнотканинних прошарках спостерігалося відкладення гемосидерину.

Нерідко у таких епулісах виявляли кісткові балочки за участі одноядерних клітин, що мали остеобластичні властивості. Утворювалися кісткові балочки, подібні до кісткової тканини щелеп, яка зазнавала резорбції за участі багатоядерних клітин.

Сканувальна електронна мікроскопія такого епулісу показала добре окреслену, неінкапсульовану великоклітинну масу, що містить фібробласти, та ряд гігантських клітин (рис. 60 А, В), численні капіляри й ділянки крововиливів (рис. 60 С). Ці гігантські клітини були локалізовані в глибокому мозковому шарі пухлини. Багатоядерні гігантські клітини різної форми та розмірів. Такі гігантські клітини нараховували від 10 до 25 ядер, які розміщувалися у центрі клітини, що відповідає I типу гігантських клітин. Виявляли ділянки крововиливів, що перетворювалися на гемосидерин, який містив серед клітинних елементів у сполучнотканинних прошарках.

У наших дослідженнях установлено, що CD68-клітини (макрофаги) відіграють ключову роль у рості гігантоклітинного епулісу, який під час прогресування спричинює поширення резорбтивного процесу в альвеолярному відростку шелеп. За результатами досліджень та літературними даними [20], впевнено можна стверджувати, що CD68-позитивні багатоядерні клітини відіграють важливу роль у резорбтивному процесі. Наявність негативного кореляційного зв'язку між макрофагальними клітинами, Т-, В-лімфоцитами і нейтрофільними лейкоцитами CD68- CD3 ($r = –0,58$, $p = 0,05$), CD68-CD79A ($r = –0,41$, $p = 0,05$), CD68-MPO ($r = –0,50$, $p = 0,05$) підтверджує вищезазначене.

Не є випадковими результати наших досліджень, що засвідчили значний позитивний кореляційний зв'язок між CD68 та OPN ($r = 0,92$, $p = 0,92$) при гігантоклітинному епулісі. Цей зв'язок свідчить про остеогенне походження гігантських клітин у відповідному епулісі. Дослідженнями К. Ухіно (2015 р.) показано [21], що остеокласти – клітини макрофагального ряду, які утворюють симпласти у кістковій тканині для її резорбції, – одна із стадій ремоделювання кісткової тканини. Ми вважаємо, що факт тісного зв'язку CD68-OPN частково підтверджує пухлинне походження гігантоклітинного епулісу.

Водночас ми не виявили кореляційного зв'язку між маркером проліферації Ki-67 та CD68-позитивними клітинами у гігантоклітинному епулісі ($r = 0,08$). Цей факт підтверджує гіпотезу, що гігантські клітини утворюються шляхом злиття. Ця думка вперше запропонована у дослідженнях М. Д. Аіша (2015 р.) про утворення симпластів шляхом злиття, а не поділу клітин [22].

Специфіка функціонування CD68-позитивних клітин пояснюється кореляційним зв'язком CD68−S100 ($r = 0,54$, $p = 0,05$). Наявність позитивного кореляційного зв'язку середньої сили дозволяє стверджувати, що недостатня функціональна активність гігантських клітин макрофагального походження призводить до утворення симпластів шляхом злиття. Щодо нашої гіпотези, то ми не натрапили на літературні джерела, які підтримують цю думку, але цей висновок доводиться кластерним аналізом, де CD68- та S100-маркери входять до одного кластера. Той факт, що Т-клітини впливають на формування гігантоклітинних симпластів шляхом експресії регуляторних кіназ, чітко стверджується у сучасних наукових дослідженнях [23]. Ми встановили, що Т-клітини є обов'язковою складовою частиною гігантоклітинного епулісу. Отже, результати, які ми одержували, та літературні дані можна узагальнити таким чином: слабка функціональна активність CD68 спонукає Т-клітини продукувати сигнали, спрямовані на активне формування симпластів. Про це свідчить кластерний аналіз, який дозволяє більш чітко зрозуміти етіопатогенез гігантоклітинного епулісу та показує, що до складу одного кластера увійшли CD68- та CD3-клітини.

Знижена функція макрофагальних клітин може бути обумовлена накопиченням у них значної кількості іонів Co^{2+} та Cr^{6+}, а білок S100 є металопротеїном. Надмірне накопичення цих іонів здатне блокувати ензим S100 [24], оскільки цей білок є Ca- та Zn-залежним, а ці іони заміщуються на Co^{2+} та Cr^{6+}.

Ще однією патогенетичною ланкою прогресування гігантоклітинного епулісу є той факт, що збільшення кількості гігантських клітин обумовлюють зменшення експресії проапоптотичного ензиму p53. Це відобразилося у негативному слабкому кореляційному зв’язку між CD68-клітинами та ензимом p53 ($r = – 0,3$, $p = 0,05$) і підтверджено кластерним аналізом. Проведена кластеризація доводить вищезазначений зв'язок. На користь цієї думки свідчать поодинокі дослідження, які засвідчують подібний зв'язок [25].

Ми проаналізували потенціал гігантських клітин до ангіогенезу. VEGF увійшов до сьомого фактора, що впливає на формування гігантоклітинного епулісу. На жаль, ми не виявили кореляційного зв’язку між гігантськими клітинами та судинним фактором росту. Кластерний аналіз також об’єднав фактор росту судин із клітинами В-ряду. Це дозволяє стверджувати, що у формуванні гігантоклітинного епулісу беруть участь макрофаги М1, які виконують резорбтивні функції [26]. Отже, додатковим фактором, що дозволяє підтвердити вищезазначену гіпотезу, є середній позитивний кореляційний зв'язок між ММР-1 та CD68 ($r = 0,60$, $p = 0,01$). Значна експресія ММР-1 гігантськими клітинами пояснює морфологічну будову гігантоклітинного епулісу, а саме: крововиливи, що зумовлюють утворення гемосидерину, резорбцію альвеолярного відростка та незначну кількість колагенових структур у стромі.

Однією з імуногістохімічних ознак гігантоклітинного епулісу є значна експресія IgG та IgM. Слабкий кореляційний зв'язок ми виявили між IgM та CD68-клітинами ($r = 0{,}25$, $p = 0{,}25$), а його результатом – позитивну імуногістохімічну експресію IgM у гігантських клітинах. У процесі розвитку запалення пародонта IgM активує комплемент 3, мішенню якого є клітини макрофагального ряду. Ці клітини в нормі не експресують IgM. На нашу думку, накопичення IgM у цитоплазмі гігантських клітин при запаленні пародонта виникло внаслідок фагоцитування комплексу IgM-C3b. Про це свідчить кластерний аналіз, що об'єднав в один клас IgM та клітини макрофагального ряду.

Мутації у гені, що кодує ліганд CD40 (CD40 є рецептором CD154, Т-хелперних клітин), призводять до активування В-клітин для підвищеної IgM-продукції. Таким чином, мутація CD40 обумовлює підвищення кількості IgM [27]. Мутація CD40 ліганда клітин спричинює активацію остеокластичної резорбції, яка спостерігається у хворих з Х-хромосомним гіпер- IgM-синдромом. Це спричинює накопичення IgM у цитоплазмі остеокластичних клітин [28].

Згідно з результатами нашої роботи ми спостерігали середньої сили позитивний кореляційний зв'язок між Т-лімфоцитами та білком р53 ($r = 0{,}39$, $p = 0{,}05$). Природа цього явища може бути пов'язана з мутаціями, що виникають під час запальних процесів та при впливі різних екзогенних чинників [29]. При цьому необхідно відзначити той факт, що одержаний кореляційний зв'язок є підставою змін у Т-клітинах. Результати факторіального аналізу підтверджують цей тісний зв'язок та формують фактор 3, який зумовлює ріст гігантоклітинного епулісу. Отже, природно виникає таке запитання: чому при великій кількості проапоптотичного білка р53 Т-клітини у процесі мутації не гинуть? На нашу думку, це відобразилося у слабкому позитивному кореляційному зв'язку між білком теплового шоку HSP90AA1 і Т-клітинами ($r = 0{,}25$, $p = 0{,}05$). За літературними даними, HSP90AA1 здатний стабілізувати мутагенні протеїни [30].

Накопичення IgG у гігантських клітинах ми не спостерігали, тому наявність позитивного середнього кореляційного зв'язку між клітинами CD79A та IgG є закономірною ($r = 0,47$, $p = 0,05$).

Постійна наявність білків-шаперонів у гігантських клітинах стабілізує білки і не дає розвиватися апоптотичним змінам у гігантських клітинах CD68-HSP90AA1 ($r = 0,24$, $p = 0,05$). Експресія HSP90AA1 у клітинах макрофагального ряду є закономірною. Наявність HSP90AA1 у клітинах макрофагального ряду спрямована на захист поліпептидного ланцюга при фагоцитуванні та представленні антигену [31, 32].

Важливу роль у формуванні гігантоклітинного епулісу відіграє епітелій, що покриває його поверхню. Ми зазначали раніше, що при запаленні пародонта та при розвитку гігантоклітинного епулісу існує зв'язок між епітеліальними білками MMP-1 та OPN ($r = 0,59$, $p = 0,05$), які потенціюють крововиливи та посилюють міграцію лейкоцитів.

Звертаємо увагу, що гранулоцитарні лейкоцити у ділянках запалення пародонта спричиняють негативні зміни у кістковій тканині та судинах. Це пошкодження зумовлене дією продуктів каталізу MPO, що відображено у негативному коефіцієнті кореляції між білками MPO та CD68 ($r = –0,50$, $p = 0,05$). Отже, у гігантоклітинному епулісі продукти каталізу мієлопероксидази призводять до зменшення кількості клітин макрофагального ряду.

За результатами викладеного матеріалу ми пропонуємо схему формування гігантоклітинного епулісу з урахуванням вищезазначених зв'язків (рис. 61).

Найбільш важливе значення при формуванні гранульоми мають фактори, що інгібують міграцію макрофагів, а також фактори, які активують міграцію макрофагів. Фактори, які продукують Т-лімфоцити, обумовлюють накопичення макрофагів у епулісах. Вони залучаються під дією самого подразника або хемотаксичного фактора (OPN), що виділяється епітелієм, агрегацією цих клітин, злиттям їх з утворенням гігантських багатоядерних клітин, активацією макрофагів із посиленням їх мікробоцидної та цитотоксичної функцій.

Інтерлейкіни та система комплементу, у свою чергу, служать для регуляторних впливів на лімфоцити. Так, інтерлейкін-1 є регулювальним сигналом для Т-лімфоцитів-хелперів. Останні виділяють інтерлейкін-2, що регулює диференціювання природних клітин-кілерів.

Результати енергодисперсійної спектрофотометрії показали, що неорганічна фаза епулісів в основному складається з елементів кальцію і фосфору як основних компонентів із деякими незначними концентраціями таких елементів , як Cr, Zn, Mg, Fe, Co і K. У гігантоклітинних епулісах значною мірою накопичувалися іони Co^{++}. Це добре бачимо з таблиці 8. Рівень іонів Co^{++} статистично достовірно збільшується ($P < 0,05$). Що стосується концентрації Cl^- і K^+, то ми не виявили очевидної відмінності між нормальною тканиною і тканиною епулісу ($p > 0,01$). Найнижчі рівні P і Ca спостерігалися у гігантоклітинному епулісі ($P < 0,01$).

Зміни смуг ІЧ-поглинання ДНК гігантоклітинних епулісів спостерігаються в групі δsCH2. У фіброзному епулісі δsCH2 центр – 1 464 $см^{-1}$, відсоток інтенсивності за шкалою поглинання інфрачервоного випромінювання становив ($7,94 \pm 1,57$) %. Відсоток смуг поглинання ІЧ – 1 464 $см^{-1}$ у клітинах гігантських епулісів становив ($0,46 \pm 0,09$) % (* $P = 0,05$). Кількість δsCH3 груп у ДНК досліджуваних епулісів збільшується і має такий напрямок: фіброзний епуліс → ангіоматозний епуліс → гігантоклітинний епуліс. Відсотки інтенсивності пропускання за шкалою деформаційних та маятникових коливань CH3- і CH2-груп ДНК наведені в таблиці 9. При цьому необхідно відзначити, що найбільші зміни ДНК спостерігались у гігантоклітинному епулісі (рис. 62).

Таблиця 8 – Середній вміст макро- та і мікроелементів у тканинах пародона та епулісах

Елемент, %	Фіброзний епуліс mean ±SD	Ангіоматозний епуліс mean±SD	Гігантоклітинний епуліс mean ±SD
P	10,94 ± 0,71	6,21 ± 0,78	5,75 ± 0,51**
Cl	3,51± 0,4	4,39 ± 0,67	4,39 ± 0,7
K	3,74 ± 0,21	4,25 ± 0,21	4,03± 0,19
Ca	15,68 ± 0,91	10,89 ± 1,7	11,45 ± 0,5**
Cr	-	-	0,7 ± 0,16
Zn	0,51 ± 0,04	3,56 ± 0,81***	3,79± 0,7*
Mg	0,56 ± 0,03	0,69 ± 0,12	1,1 ± 0,09**
Fe	2,88 ± 0,16	25,6 ± 0,9***	6,69 ± 0,05**
Co	-	-	11,7 ± 0,14*
Cu	-	-	2,61 ± 1,3
* P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001			

Імуногістохімічний аналіз вважається більш орієнтовним методом. Він має меншу точність порівняно з вестерн-блот-аналізом, оскільки для зрізів тканин характерна інфільтрація макрофагами, базофілами та іншими клітинами гемопоетичного походження, сполучнотканинними клітинами. Негативний результат імуногістохімії може пояснюватися тим, що клітинна та ядерна мембрани залишаються цілими. Це заважає повному зв’язуванню антитіл із ядерними білками. Протеази клітини теж можуть залишатися активними, руйнуючи MGMT й антитіла. Вестерн-блот-аналіз показує загальну кількість MGMT у клітинах.

Таблиця 9 – Відсоток інтенсивності поглинання інфрачервоного випромінювання СН3- і СН2-груп ДНК епулісів

	2953 (vasCH3)	2870 (vsCH3)	2922 (vasCH2)	2853 (vsCH2)	1465 (δsCH2)	1450 (δasCH3)	1375 (δsCH3)	(pCH2)
	валентні коливання				деформаційні коливання			маятникові коливання
Фіброзний епуліс	45,5 ± 3,3	0,42 ± 0,13	4,0 ± 0,6	19,7 ± 2,75	0,33 ± 0,021	10,21 ± 2,62	7,94 ± 1,57	4,12 ± 0,89*
Ангіоматозний епуліс	50,1 ± 6,6*	0,27 ± 0,05	4,2 ± 0,81	21,31 ± 4,28	0,42 ± 0,081	11,29 ± 2,61	10,34 ± 2,67	5,1 ± 0,72*
Гігантоклітинний епуліс	53,9 ± 3,71***	0,72 ± 0,25*	3,22 ± 0,92	25,94 ± 3,89*	0,46 ± 0,09*	15,47 ± 1,16**	13,24 ± 3,7**	7,33 ± 0,59**
*P = 0,05, **P = 0,01, ***P = 0,001								

Таким чином, для верифікації результатів імуногістохімічного дослідження ми провели вестерн-блот аналіз ензиму MGMT у зразках тканин ангіоматозного, фіброзного, гігантоклітинного епулісів порівняно з нормальною тканиною та під час запалення (рис. 63, 64).

Таким чином, за результатами морфологічних досліджень були виявлені патогенетичні особливості перебігу запалення маргінального пародонта. Особливо важливим у морфогенезі пародонтиту є зміни на рівні ДНК, частково спричинені зміною в експресії ДНК репаративного ензиму MGMT. Неможливість шапіронового відновлення та високе споживання MGMT комулюють та потенціюють розвиток розривів молекули ДНК. Негативний вплив на пародонт та ДНК безпосередньо зумовлюють іони хрому, наявні у складі стоматологічних сплавів. Окрім пародонтопатогенного впливу, іони Cr^{6+} зумовлюють також загальнопатологічну дію на організм та паренхіматозні органи.

Можна стверджувати, що ключовим механізмом, який впливає на утворення різних типів епулісів, є метилування та зміни в експресії MGMT. Безпосередній вплив на ДНК тканин пародонта здійснюють іони Cr^{6+}, здатні як приєднуватися до ДНК, так і накопичуватися у клітинах макрофагального ряду. Кількісний склад клітин інфільтрату при запаленні тканин пародонта та в епулісах залежить від багатьох факторів, ключовим з яких є дестабілізація генетичного матеріалу.

Заслуговує на увагу той факт, що більшість хворих з ознаками пародонтиту на початкових стадіях свого розвитку не мають скарг на дискомфорт у порожнині рота. Також занепокоєння викликає неадекватна увага лікарів до первинних запальних уражень пародонта, що спричиняє хронізацію запалення. Хронічне запалення пародонта призводить до втрати зубів і, як наслідок, до значних затрат держбюджету на соціальне протезування пенсіонерів та осіб похилого віку.

Враховуючи глибокі структурні перетворення в кістковій тканині при хронічних пародонтитах, можна стверджувати, що остеобласти (CD68-позитивні клітини) призводять до резорбтивних змін альвеолярного паростка.

На підставі наших досліджень та огляду літератури можна стверджувати, що OPN стимулює міграцію моноцитів, які є попередниками макрофагів та остеокластів. Здатність OPN активізувати хемотаксис Т-клітин була проаналізована імуногістохімічно та статистично. Також негативна структурна перебудова, що виникла впродовж експерименту, зумовлена впливом хрому, який входить до складу протезів. Усі патогенетичні ланки сприяють прогресуванню запальних змін у пародонті з розвитком хронічного запалення і формуванням епулісів.

Список літератури

1. Williams G. T. Granulomatous inflammation a review. / G. T. Williams, W. J. Williams // J. clin. Path. – 1983. – Vol. 36. – P. 723–733.

2. Adams D. O. The biology of the granulomas // Pathology of granulomas / D. O. Adams; unaler edition of H. L. Ioachim. New York, 1983. – P. 1–19.

3. Warren K. S. A functional classification of granulomatous inflammation / K. S. Warren // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1976. – Vol. 278. – P. 7–18.

4. Epstein W. L. Foreign body granulomas / W. L. Epstein; under edition of D. L. Boros, T. Yochida // Basic and clinical aspects of granulomatous diseases. – New York, 1980. – P. 181–197.

5. CXCL12 and CXCR4 expression by human gingival fibroblasts in periodontal disease / Y. Hosokawa, I. Hosokawa, K. Ozaki [et al.] // Clin Exp Immunol. – 2005. – № 141(3). – P. 467–474.

6. Anti-inflammatory cytokine IL-10 and T cell cytokine profile in periodontitis granulation tissue / C. P. Lappin, A. Kerr, T. Mitchell [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 2001. – № 123. – P. 294–300.

7. Expressão de S100, CD68 e moléculas de MHC classe II em lesões cervicais de alto e baixo grau induzidas por HPV Gomes Sandim Abdo Revista da Sociedade / Fernanda Cassandri, Inês Aparecida Tozetti, Carlos Eurico dos Santos Fernandes [et al.] // Brasileira de Medicina Tropical. – 2012. – № 45(1). – P. 3–8.

8. Verma R. P. Matrix metalloproteinases (MMPs): Chemical–biological functions and (Q)SARs / R. P. Verma, C. Hansch // Medicinal Chemistry. – 2007. – № 15. – P. 2223– 2268.

9. Oxidized LDL enhances pro-inflammatory responses of alternatively activated M2 macrophages: a crucial role for Kruppel-like factor 2 / L. J. H. van Tits, R. Stienstra, P. L. van Lent [et al.] // Atherosclerosis. – 2011. – № 214 (2). – P. 345–349.

10. PPARgamma activation primes human monocytes into alternative M2 macrophages with anti-inflammatory properties / M. A. Bouhlel, B. Derudas, E. Rigamonti [et al.] // Cell. Metab. – 2007. – № 6 (2). – P. 137–143.

11. M2-polarised macrophages in infantile haemangiomas: correlation with promoted angiogenesis / F. Q. Wang, G. Chen, J. Y. Zhu [et al.] // J. Clin. Pathol. – 2013. – № 66 (12). – P. 1058–1064.

12. MMP, VEGF and TIMP as prognostic factors in recurring bladder cancer / E. Wieczorek , Z. Jablonowski, B. Tomasik [et al.] // Clin. Biochem. – 2015. – № 18. – P. 9120–9135.

13. Chitin from the Extract of Cuttlebone Induces Acute Inflammation and Enhances MMP1 Expression / K. M. Lee, H. Shim, G. S. Lee [et al.] // Biomol. Ther. – 2013. – № 30, Vol 21 (3). – P. 246–250.

14. Flegel W. A. Pathogenesis and mechanisms of antibody-mediated hemolysis / W. A. Flegel // Transfusion. – 2015. – № 55. – P. 47–58.

15. Anti-Gal IgM, IgA and IgG natural antibodies in childhood / M. Hamanova, M. Chmelikova, I. Nentwich [et al.] // Immunol. Lett. – 2015. – № 164 (1). – P. 40–43.

16. Simultaneous detection of IgG, IgM, IgA complexes and C3d attached toerythrocytes by flow cytometry / M. A. Alzate, L. G. Manrique, N. I. Bolaños [et al.] // Int. J. Lab. Hematol. – 2015. – № 37 (3). – P. 382–389.

17. Clinical and phenotypic features of CD5-negative B cell chronic lymphoproliferative disease resembling chronic lymphocytic leukemia / C. Romano, A. Sellitto, F. Chiurazzi // Int. J. Hematol. – 2015. – № 101 (1). – P. 67–74.

18. Dumitriu I. E. The life (and death) of CD4 + CD28 null T cells in inflammatory diseases / I. E. Dumitriu // Immunology. – 2015. – № 20. – P. 10–11.

19. Диагностика опухолей и опухолеподобных образований в области десен / А. В. Щипский, В. А. Хрипунков [и др.] // Российский стоматологический журнал. – 2008. – № 4. – С. 29-31.

20. Torabinia N. A comparative immunohistochemical evaluation of CD68 and TRAP protein expression in central and peripheral giant cell granulomas of the jaws / N. Torabinia, S. M. Razavi, Z. Shokrolahi // J. Oral Pathol. Med. - 2011. – № 40 (4). – P. 334–337.

21. Dual Effects of Liquiritigenin on the Proliferation of Bone Cells: Promotion of

Osteoblast Differentiation and Inhibition of Osteoclast Differentiation / K. Uchino, K. Okamoto, E. Sakai [et al.] // Phytother Res. – 2015. – № 14. – P. 541–546.

22. Orbital fluid shear stress promotes osteoblast metabolism, proliferation and alkaline phosphates activity in vitro / M. D Aisha, M. N. Nor-Ashikin, A. B. Sharaniza [et al.]. Exp. Cell: Res. – 2015. – № 9. – P. 4827–4842.

23. Notarangelo L. D. X-linked immunodeficiency with hyper-IgM (XHIM) / L. D. Notarangelo, A. R. Hayward // Clin. Exp. Immunol. – 2000. – № 120. – P. 399–405.

24. Bortezomib Inhibits Osteoclastogenesis and Porphyromonas gingivalis Lipopolysaccharide-induced Alveolar Bone Resorption / Y. G. Kim, J. H. Kang, H. J. Kim [et al.] // J. Dent. Res. – 2015. – № 30. – P. 22–34.

25. Heizmann C. W. New perspectives on S100 proteins: a multi-functional Ca(2+)-, Zn(2+)- and Cu(2+)-binding protein family / C. W. Heizmann, J. A. Cox // Biometals. – 1998. – № 11(4). – P. 383–397.

26. Immunohistochemical comparison of p53, Ki-67, CD68, vimentin, α-smooth muscle actin and alpha-1-antichymotry-psin in oral peripheral and central giant cell granuloma / O. Kujan, A. Z. Al-Shawaf, S. Azzeghaiby [et al.] // J. Contemp. Dent. Pract. – 2015. – № 116 (1). – P. 20–24.

27. Osteopenia in X-linked hyper-IgM syndrome reveals a regulatory role for CD40 ligand in osteoclastogenesis / E. Lopez-Granados, S. T. Temmerman, L. Wu [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci U S A. – 2007. – Vol. 104 (12), № 20. – P. 5056–5061.

28. Notarangelo L. D. X-linked immunodeficiency with hyper-IgM (XHIM) / L. D. Notarangelo, A. R. Hayward // Clin. Exp. Immunol. – 2000. – № 120. – P. 399–405.

29. Osteopenia in X-linked hyper-IgM syndrome reveals a regulatory role for CD40 ligand in osteoclastogenesis / E. Lopez-Granados, S. T. Temmerman, L. Wu [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci U S A. – 2007. – Vol. 104 (12), № 20. – P. 5056–5061.

30. A selenosemicarbazone complex with copper efficiently down-regulates the 90-kDa heat shock protein HSP90AA1 and its client proteins in cancer cells / H. Shen,

H. Zhu , M. Song // BMC Cancer. – 2014. – Vol. 14, № 29. – P. 629–643.
31. Stanislawska J, Influence of bacterial antigens on activation of human splenic dendritic cells / J. Stanislawska, B. Interewicz, W. L. Olszewski // Ann. Transplant. – 2004. – № 9 (4). – P. 54–57.
32. A dual role for HSP90 and HSP70 in the inflammatory myopathies: from muscle fiber protection to active invasion by macrophages / B. Paepe, K. K. Creus, J. J. Martin [et al.] // Ann. NY Acad. Sci. – 2009. – № 1173. – P. 463–469.

Практичне значення

В умовах практичної поєднаної роботи стоматолога та патологоанатома вивчення запалення пародонта починається з макроскопічного й мікроскопічного (гістологічного) описів. При макроскопічному описі важливо оцінити наявність епулісів, а також розміри і топографію осередків ураження, патології прикусу, наявність полімерних реставрацій у пришийковій ділянці та наявність протезів. Під час гістологічного дослідження бажано керуватися певною класифікацією епулісів за їх морфологічною будовою. Епуліси, хоча і є формою хронічного запалення, але як будь-яке запалення проходить як циклічна реакція. Можливі такі морфологічні зміни у вогнищі ушкодження пародонта при епулісі:

1) розсмоктування клітинного інфільтрату;

2) некроз з утворенням дефекту тканин;

3) нагноєння епулісу з утворенням пародонтального абсцесу;

4) фіброзне перетворення гранульоми з утворенням фіброзного вузлика (фіброзний епуліс);

5) розростання гранульоми, іноді з формуванням псевдопухлини.

Розростання гранульоми з формуванням псевдопухлини спостерігається в тих випадках, коли гранульома внаслідок реактивності макроорганізму або властивостей патогенного агента (мікрофлори пародонтального кармана) продовжує прогресувати. Виникає псевдопухлина або гранулобластома (пародонтома). Клінічно вони симулюють справжні пухлини. Лише за допомогою біопсії та гістологічного дослідження можна визначити справжню природу псевдопухлини.

Необхідно зазначити, що під час діагностики форми епулісів та характеру запалення тканин пародонта доцільно проводити діагностичний аналіз декількома етапами.

На першому етапі бажано виявити гістологічну форму продуктивного запалення (зрілі макрофагальні гранульоми). Гістологічна форма епулісів значною мірою дозволить віднести кожний конкретний випадок гранулематозного запалення до тієї чи іншої групи. Перший етап діагнозу можна провести в будь-якому патологоанатомічному відділенні, при цьому бажано дотримуватися схеми опису.

Другий етап діагностики полягає в точному встановленні етіологічного фактора. Цей етап діагностики вимагає використання додаткових методів дослідження, крім морфологічного: бактеріологічних, імунологічних,

імуноморфологічних, спектрографічних тощо. Він може бути проведений насамперед у спеціалізованих лікувальних закладах і патологоанатомічних бюро. Встановлення етіології гранулематозного запалення дуже важливе для стоматологів, оскількик визначає подальшу терапію. Так, при епулісах основне завдання у лікуванні полягає в тому, щоб якомога швидше усунути подразник.
Установлення етіологічного фактора та ліквідація контакту з подразником можуть призупинити прогресування процесу втрати альвеолярного паростка.

Третій етап діагностики полягає у виявленні імунопатологічних механізмів формування епулісів, швидкості оновлення клітин у вогнищі запалення, що вимагає наявності реактивів, зокрема моноклональних антитіл, для диференційованого виявлення типів макрофагів, лімфоцитів тощо.

Тому ми пропонуємо для третього етапу діагностики впровадження комплексного патоморфологічного способу діагностики гігантоклітинних епулісів у закладах охорони здоров'я (обласних, міських, районних): патологоанатомічних відділеннях, терапевтичних та хірургічних відділеннях стоматологічних лікарень і поліклінік, щелепно-лицьових відділеннях обласних лікарень та онкологічних диспансерів, бюро судово-медичних експертиз.

Гігантоклітинні епуліси та остеобластокластома є досить частими новоутвореннями зубощелепної системи, що також можуть спостерігатися у кістках скелета (центральна остеобластокластома). Пусковим механізмом розвитку остеобластокластоми є виникнення транслокації за участі 4-ї та Х-хромосом [t(X; 4) (q22; q31.3)] із подальшим збільшенням кількості остеокластоподібних клітин, що спричиняють запуск каскаду кістково - резорбуючих реакцій, результатом яких є зменшення кісткової маси щелеп. На сьогодні питанням диференціальної діагностики гігантоклітинного епулісу з остеобластокластомою приділяється більше уваги в сучасній стоматології.

Пацієнти з верифікованим гігантоклітинним епулісом мають кращий прогноз відновлення кісткової тканини щелеп за рахунок використання остеотропних препаратів та якісного протезування.

Запроваджені у практичну стоматологію та щелепно-лицьову хірургію ефективні кістково-індукуючі матеріали, що стимулюють ремоделювання кістки та опосередковано остеобластокластоми. Гігантоклітинні гранульоми є нейтральними до кістково-індукуючих матеріалів. Вищенаведені дані аргументують необхідність точної верифікації діагнозу, що визначає специфічну тактику лікування, від якої залежить прогноз якості життя пацієнта.

Проте морфологічну верифікацію ускладнює подібність остеобластокластоми з продуктивним запальним процесом та генетичними захворюваннями. Цей факт пояснюється наявністю спільного клітинного попередника. З одного боку, некоректне протезування спричиняє хронічне подразнення і, як наслідок, – розвиток гранульом сторонніх тіл. Формуються гранульоми шляхом злиття та ендомітозом макрофагів у гігантські клітини, які спричиняють процес резорбції стороннього тіла. З іншого боку, остеобластокластома формується лише шляхом злиття макрофагів за участі Т-лімфоцитів після виникнення відповідної транслокації. Ці дані аргументують необхідність використання додаткового імуногістохімічного дослідження.

Показання до застосування. Запропонований спосіб діагностики дозволяє верифікувати гігантоклітинний епуліс та визначити його резорбтивний потенціал на основі комплексного оцінювання гістологічних та імуногістохімічних характеристик, що вміщує аналіз одержаних у досліджуваному матеріалі реакцій із такими маркерами гістогенезу: OPN, CD68, CD3; MMP1, VEGF; маркером активності макрофагів S100; показником проліферативної активності Кі-67.

Протипоказання до застосування. Пухлини екстраальвеолярної локалізації.

Методика виконання. Одержані в результаті біопсії чи оперативного втручання (видалення пухлини) фрагменти тканин новоутворень фіксують у нейтральному забуференому 10 % формаліні, потім заливають парафіном.
Частина виготовлених гістологічних зрізів забарвлюється гематоксилін – еозином, інша – підлягає поетапному імуногістохімічному дослідженню, з використанням панелі первинних антитіл: OPN, CD68, CD3; MMP1, VEGF, S100, Кі-67. Аналіз одержаних імуногістохімічних реакцій передбачає оцінювання характеру коричневого забарвлення мембрани, цитоплазми та ядра гігантських клітин при × 200 збільшенні мікроскопа.

Позитивна реакція з маркерами OPN CD68, CD3; MMP1, VEGF, S100, Кі -67 інтерпретується за наявності коричневого забарвлення більше 5 % гігантських клітин, що визначається на мембрані або цитоплазмі, та має різний ступінь інтенсивності. Наявність слабкої інтенсивності забарвлення менше 5 % клітин вважається слабопозитивною реакцією. Для виключення технологічних помилок використовують позитивні реакції вищезазначених маркерів із непухлинним позитивним контролем.

Діагноз остеобластокластоми може бути верифікований на підставі такого імунофенотипу гігантських клітин: позитивної реакції (+) з маркерами CD 68, OPN, S100 та негативного статусу (-) маркерів Кі-67, CD3.

Відсутність реакцій чи позитивна експресія маркерів S100, MMP1 та VEGF є підставою для встановлення кістково-резорбтивного потенціалу остеобластокластоми. MMP1- статус є вирішальним для верифікації цього потенціалу. VEGF відображає васкуляризацію патологічно зміненої тканини. У випадку негативного статусу MMP1, VEGF, S100 та відсутності забарвлення значний потенціал резорбції альвеолярного паростка виключається.

Діагноз гранульоми може бути верифікований на підставі такого імунофенотипу гігантських клітин: позитивної реакції (+) з маркерами Кі-67, CD 68, слабкопозитивної S100 та негативного статусу OPN.

Діагностична цінність способу полягає в можливості точної верифікації діагнозу гігантоклітинного епулісу, проводячи комплексне оцінювання морфологічних та імуногістохімічних критеріїв, виключаючи найбільш подібні досліджувані новоутворення за морфологічними критеріями: гігантоклітинну гранульому, херувізм та ін., що підтверджує власний гістогенез гігантоклітинного епулісу.

Таким чином, запропонований спосіб діагностики гігантоклітинного епулісу, ґрунтується на молекулярно-біологічних властивостях гігантських клітин, це дозволяє збільшити точність діагностики, а також інформативність кінцевого результату на до- і післяопераційних етапах, що не лише може покращити прогноз, а й зберегти якість життя пацієнта.

Висновки

1. Інтенсивний показник запальних захворювань тканин пародонта за останні десять років у північних областях України характеризувався тенденцією до його зростання і підвищився до 0,445 $^{o}/_{oooo}$ у 2011 році та до цього часу залишається на високому рівні.

2. У хворих при пародонтитах та епулісах установлено гістологічні, імуногістохімічні, біохімічні, алкілувальні особливості патогенетичних механізмів розвитку ушкодження тканин пародонта. Виявлений зв'язок між атеросклеротичним процесом та запальною пародонтальною реакцією,

обумовленою підвищеною експресією MMP-1 епітелієм до (95,8 ± 2,43) % ($p < 0,001$).

3. Пародонтити та епуліси супроводжуються порушеннями у структурній організації ДНК клітин пародонта, що проявляється гіперметиляцією, спричиненою дією бактерій, які зумовлюють прогресування запального процесу та зменшення репаративної здатності клітин пародонта. При цьому відсоток інфрачервоних смуг поглинання – CH_3-групи ДНК становить (10,39 ± 2,44) % ($p = 0,001$), що призводить до інактивації генів**.**

4. Роль епітелію та синтез ензимів MMP-1 та OPN у патогенезі розвитку пародонтиту полягають у резорбції альвеолярного відростка кістки і посиленні міграції імунних клітин у вогнище запалення. Синтез VEGF епітелієм сприяє поступовому вростанню судин у різні види епулісів, що призводить до комуляції міграції імунних клітин крові і, як наслідок – до збільшення кількості нейтрофілів та макрофагів.

5. Патогенетично обґрунтований шлях переходу запалення пародонта у різні види епулісів, обумовлений гіперметилуванням ДНК та змінами експресії MGMT. За результатами кластерного та факторіального аналізів створені узагальнювальні моделі росту та прогнозування різних типів епулісів: Y = 0,62 F1 + -0,71F2 + –0,74 F3 + 1,44 F4 + 0,53 F5 + – 0,76F6 – для фіброзного епулісу; Y = –0,024F1 + 0,09 F2 + –1,36 F3 + –0,73 F4 + 0,65 F5 + 0,63 F6 + 0,71 F7 – для гігантоклітинного епулісу; Y = 2,15 F1 + 1,36F2 + –0,67 F3 + –0,77 F4 + 0,53 F5 + 0,61 F6 + 0,61 F7 – для ангіоматозного епулісу.

6. У хворих на гігантоклітинні епуліси виявлено p53 та Т-лімфоцитарну роль у формуванні гігантських клітин шляхом злиття F3 = CD3 –0,74 + p53 –0,62. Велика кількість гігантських клітин макрофагального походження спричинює резорбцію альвеолярного відростка. Зміни клітинної ланки імунітету при пародонтитах пов’язані з метилуванням ДНК клітин строми гігантоклітинного епулісу, що призводить до його прогресування.

7. IgG та IgM сприяють фагоцитуванню мікробних клітин при запаленні пародонта та утворюють одну з головних ланок у патогенезі різних типів епулісів та опосередковано стимулюють накопичення різних хімічних елементів у гігантських клітинах: Cu – 2,61 ± 1,3, Fe – 6,69 ± 0,05, $P < 0,01$; Co – 11,7 ± 0,14, $P < 0,05$.

8. На підставі проведених імуногістохімічних і статистичних досліджень ми запропонували панель маркерів для діагностики різних типів епулісів, що вміщує IgG-, IgM-, MMP-1-, MPO-, CD3-, CD68-, OPN-, S100-, VEGF-, Ki 67- ензими. Діагноз гігантоклітинного епулісу може бути верифікований на підставі такого імунофенотипу гігантських клітин: позитивної реакції (+) з маркерами CD 68, OPN, S100 та негативної (-) – з маркерами Ki-67, CD3. Діагноз ангіоматозного епулісу може бути верифікований на підставі такого імунофенотипу: позитивної реакції (+) з маркерами VEGF, MGMT, Gli, Ki-67 та негативної реакції (-) маркерів OPN, S100. Діагноз фіброзного епулісу може бути верифікований на підставі такого імунофенотипу: позитивної реакції (+) з маркерами IgM, MMP-1, MPO, CD3 та негативної реакції (-) з маркером IgG.

Додаток А

(довідковий)

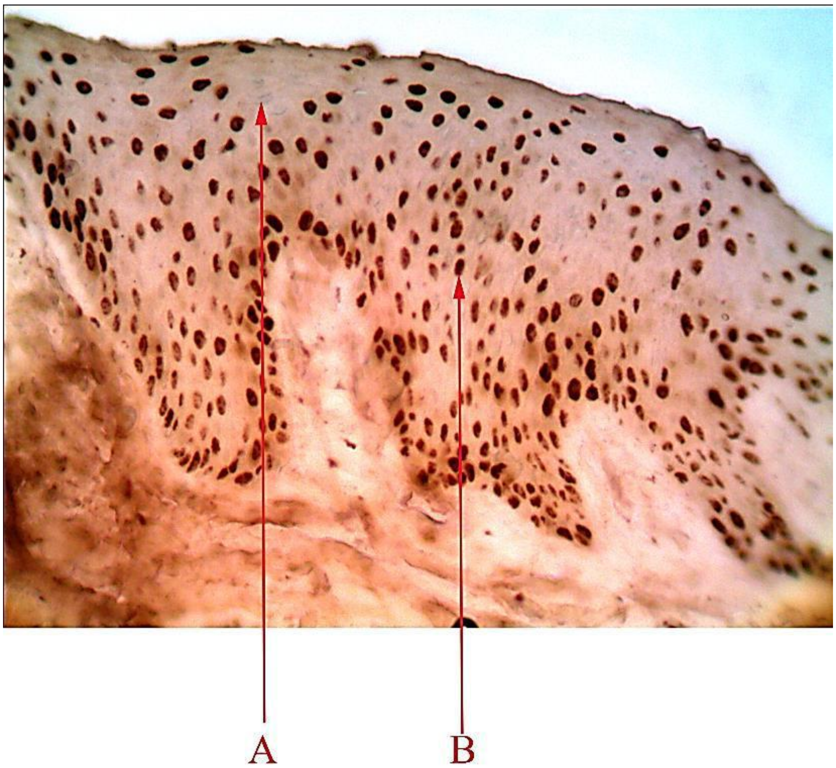


Рисунок 2 – Імуногістохімічне виявлення p53 у тканинах пародонта при запаленні. Збільшення × 340: А – p53–негативні ядра; В – p53–позитивні ядра

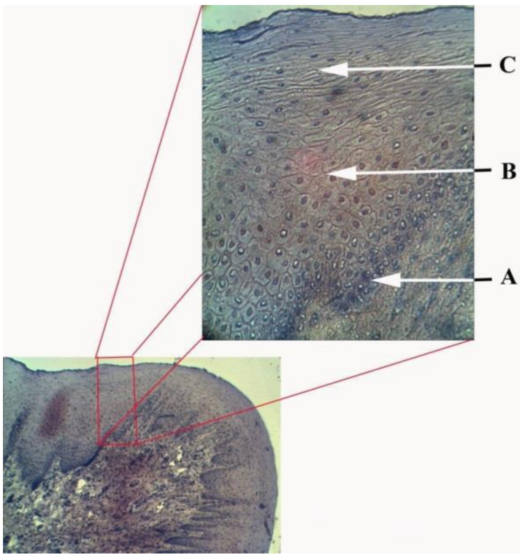


Рисунок 3 – Експресія p53 у тканинах пародонта без запалення. Збільшення × 40–340: А – p53–негативні ядра базального шару; В – p53–негативні ядра шипуватого шару; С – p53–негативні ядра зернистого шару

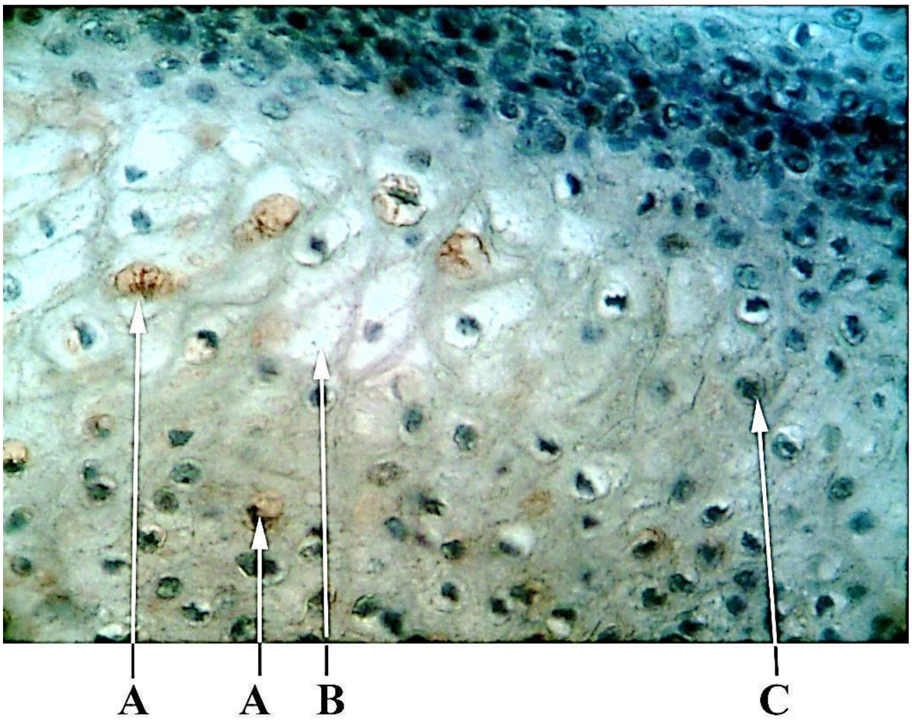


Рисунок 4 – Імуногістохімічні виявлення p53 у тканинах пародонта при запаленні. Збільшення × 400: А – p53–позитивна реакція; В – завершальна стадія апоптозу; С – нормальна клітина

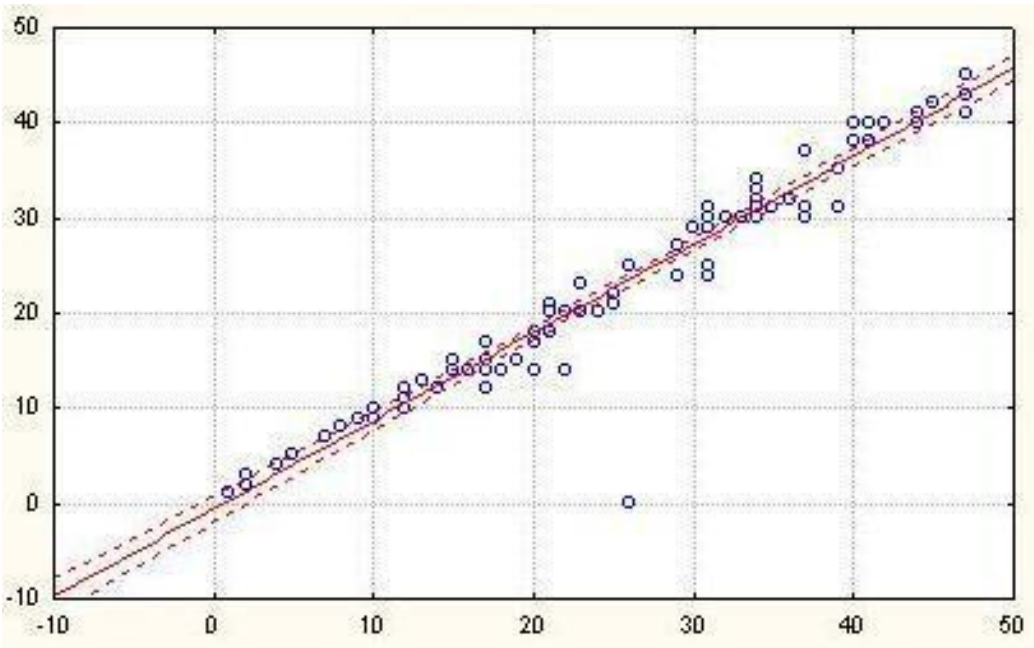


Рисунок 5 – Діаграма розсіювання ступеня пошкодження ДНК із рівнем експресії p53 у пацієнтів із пародонтитом різного ступеня тяжкості

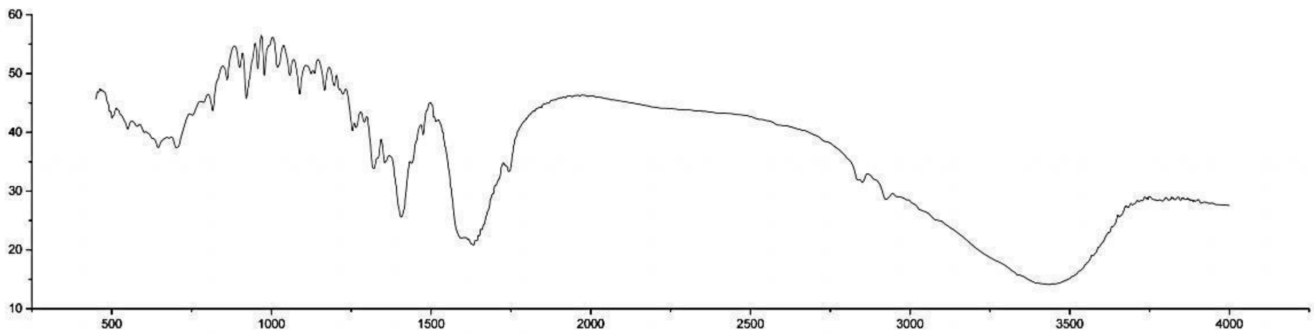


Рисунок 6 – ДНК тканин пародонта в нормі
(інфрачервона спектрофотометрія)

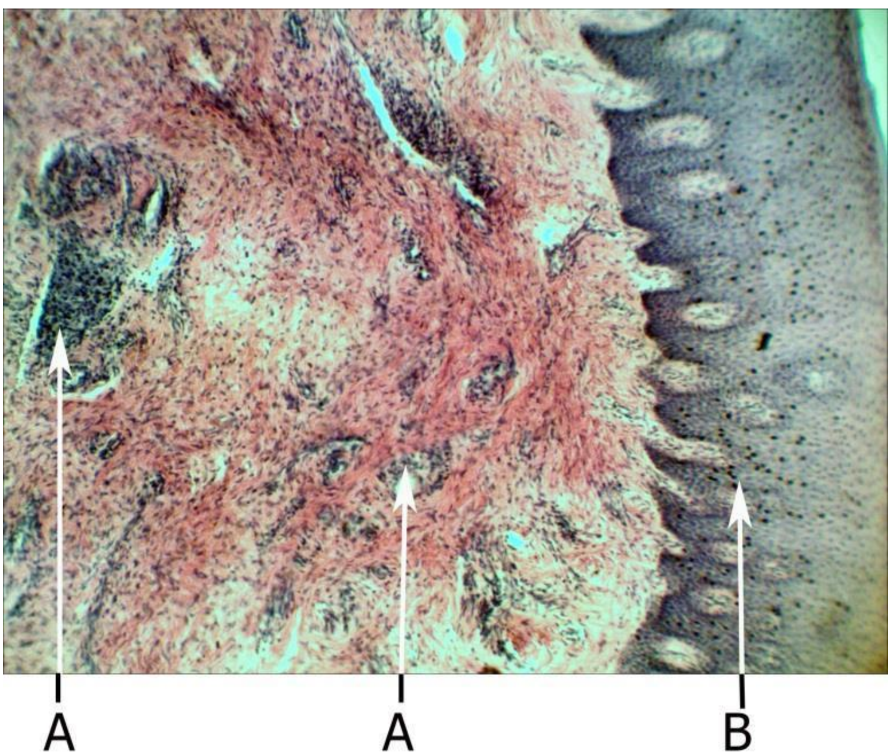


Рисунок 7 – Нодулярний тип інфільтрату. Забарвлення гематоксилін–еозином. Збільшення × 100: А – вузли інфільтрату; В – епітелій із посиленою міграцією лімфоцитів

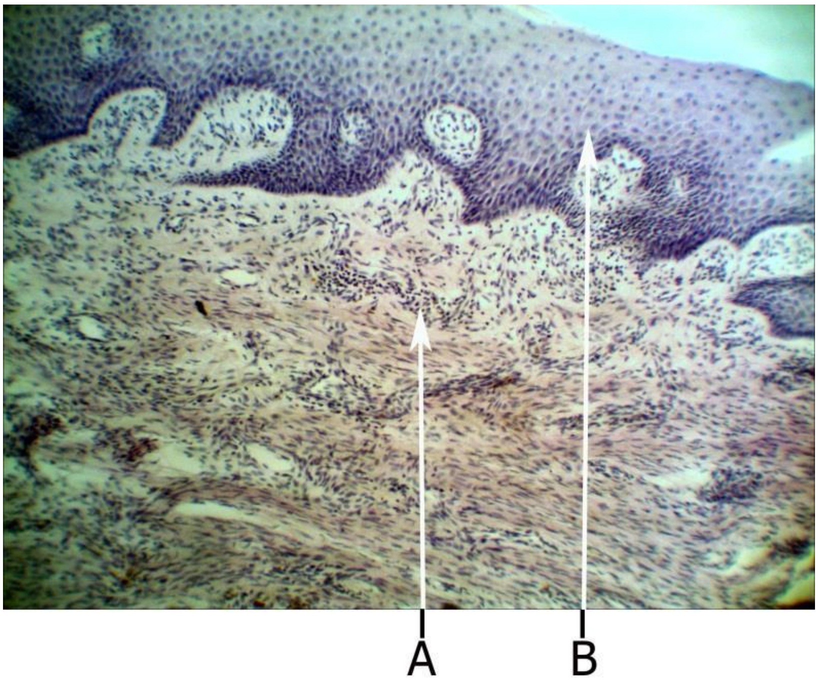


Рисунок 8 – Трабекулярний тип інфільтрату. Забарвлення гематоксилін–еозином. Збільшення ×100: А – трабекули інфільтрату; В – епітелій

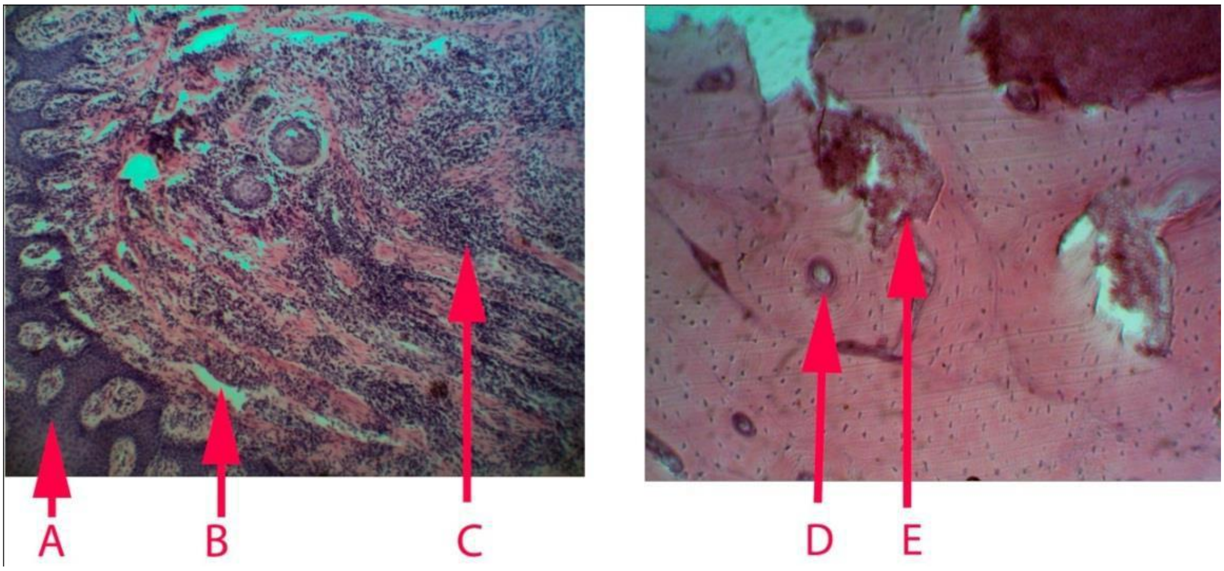


Рисунок 9 – Дифузний варіант клітинного інфільтрату та запальна лакунарна резорбція кісткової тканини. Забарвлення гематоксилін–еозином

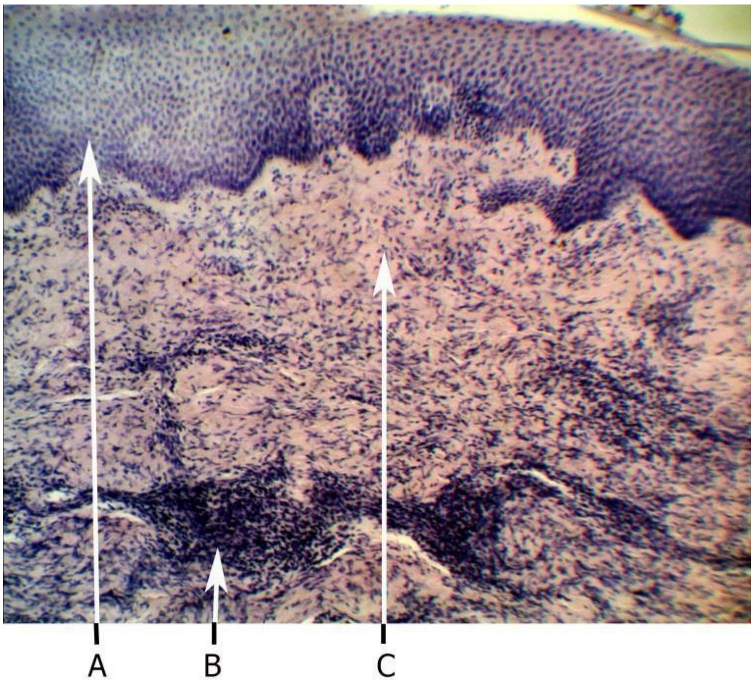


Рисунок 10 – Змішаний тип інфільтрату. Забарвлення гематоксилін–еозином. Збільшення × 100: А – епітелій; В – вузли інфільтрату; С – дифузна інфільтрація

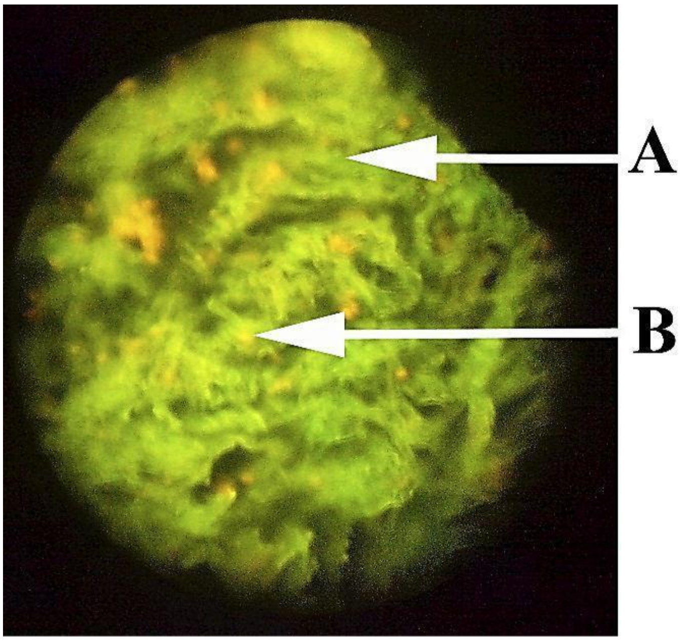


Рисунок 11 – Загострення запалення пародонта. Забарвлення акридиновим помаранчевим. Збільшення × 400: А – набряк колагенових волокон; В – запальні клітини

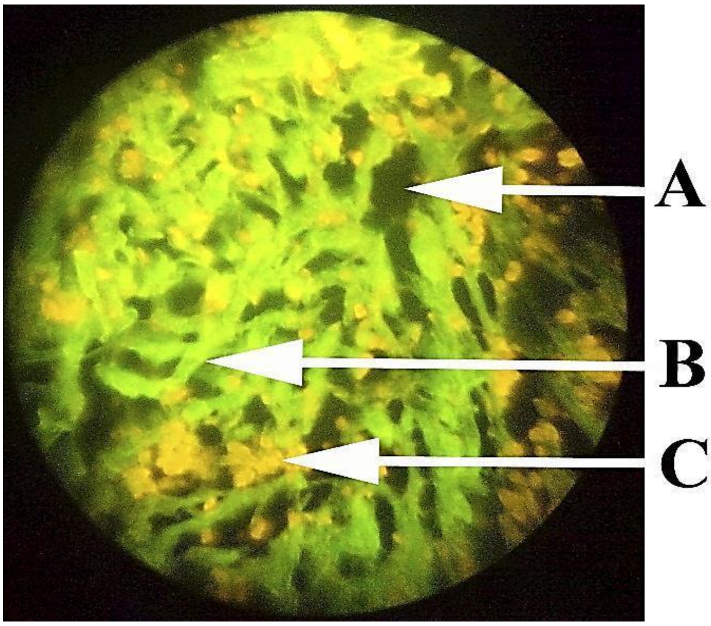


Рисунок 12 – Загострення запалення пародонта з вторинною альтерацією. Забарвлення акридиновим помаранчевим, збільшення × 400: А – набряк; В – колагенові структури; С – запальна клітинна інфільтрація, змішаний тип

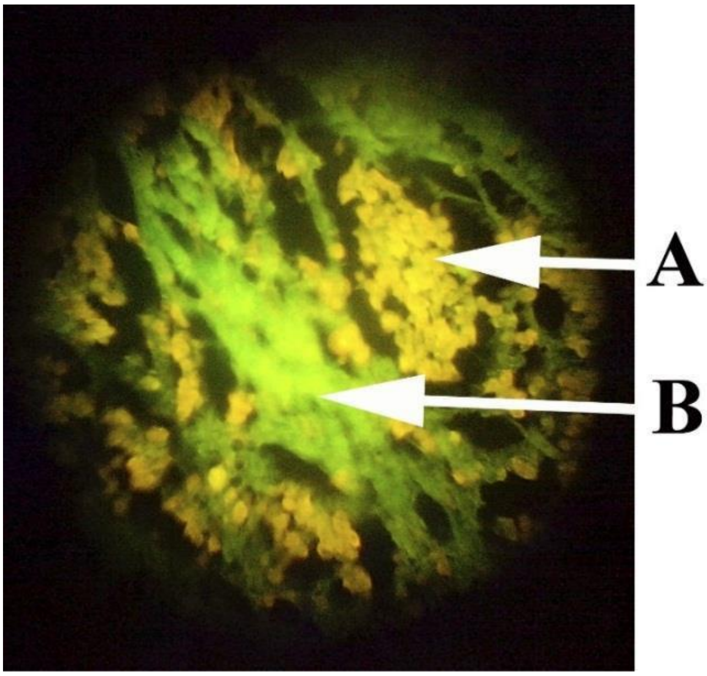


Рисунок 13 – Хронічне запалення пародонта. Забарвлення акридиневим помаранчевим. Збільшення × 400: А – запальна клітинна інфільтрація; нодулярний тип; В – колагенові структури

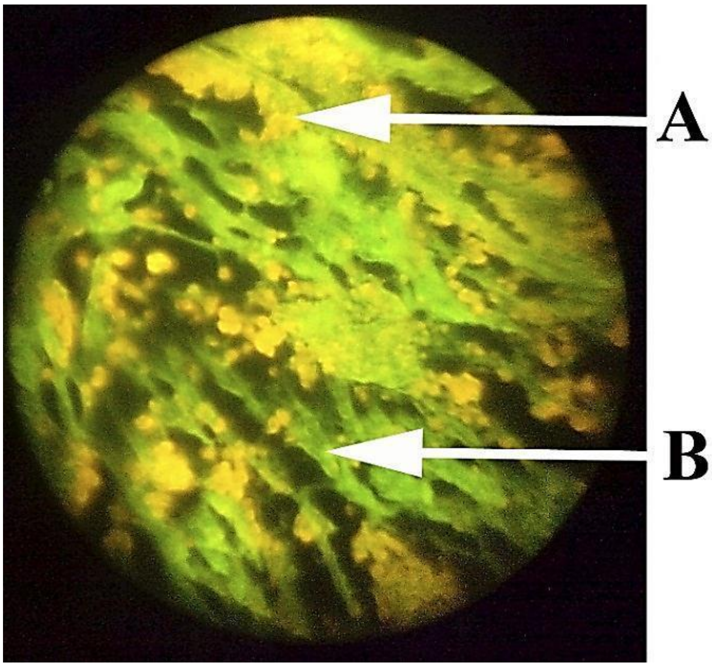


Рисунок 14 – Загострення хронічного запалення пародонта. Забарвлення акридиновим помаранчевим. Збільшення × 400: А – запальна клітинна інфільтрація; В – набряклі колагенові структури

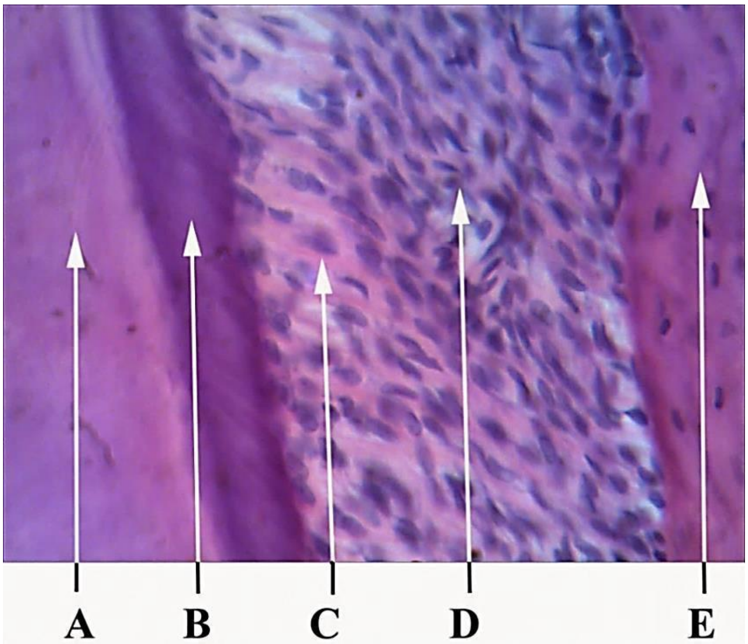


Рисунок 15 – Періодонтальна щілина. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення × 400: А – дентин; В – цемент; С – волокна періодонта; D – фібробласти; Е – кістка

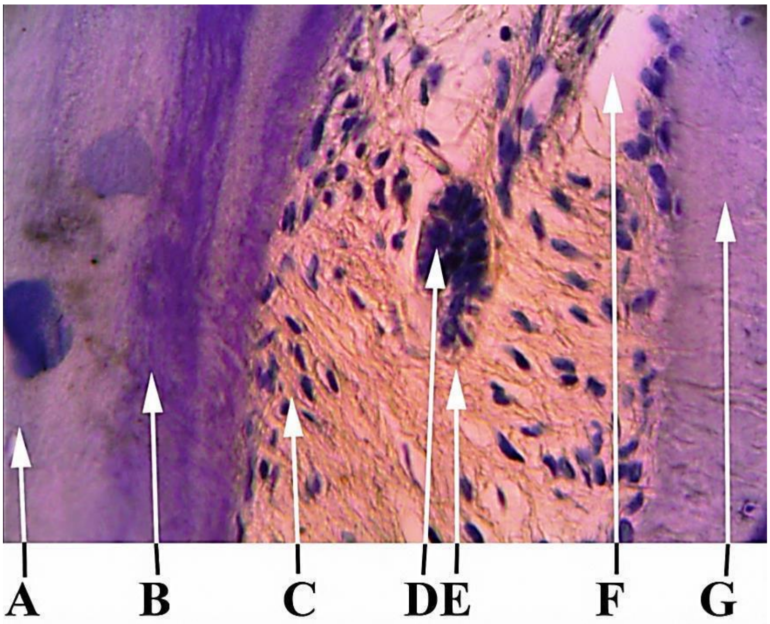


Рисунок 16 – Сплячі острівці Малясе. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення × 400: A – дентин кореня зуба; B – цемент кореня; C – періодонтальні волокна; D – епітеліальні клітини острівця Малясе; E – базальна мембрана острівця Малясе; F – судина періодонтальної щілини; G – кістка

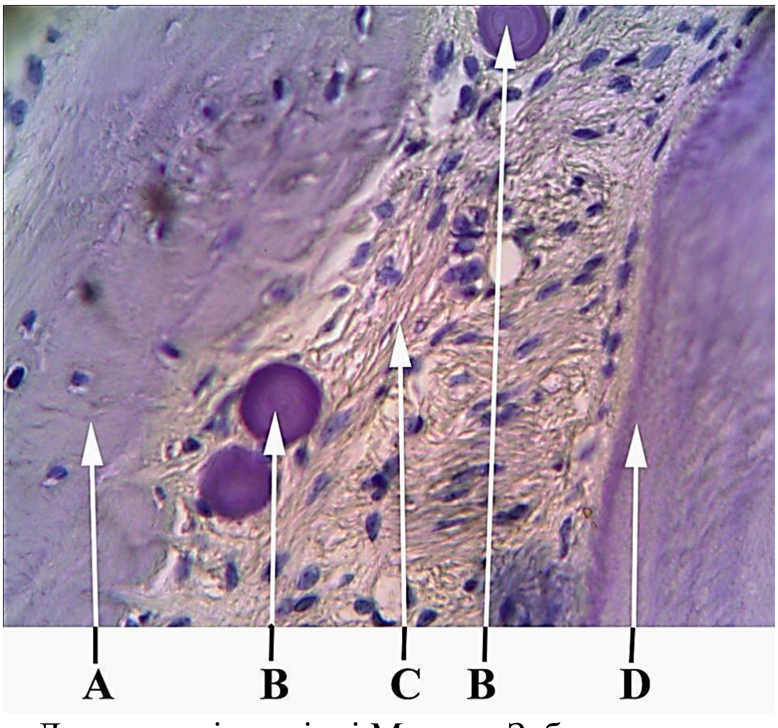


Рисунок 17 – Деградуючі острівці Малясе. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення ×400: A – кістка; B – осифіковані острівці Малясе; C – періодонтальні волокна; D – дентин кореня зуба

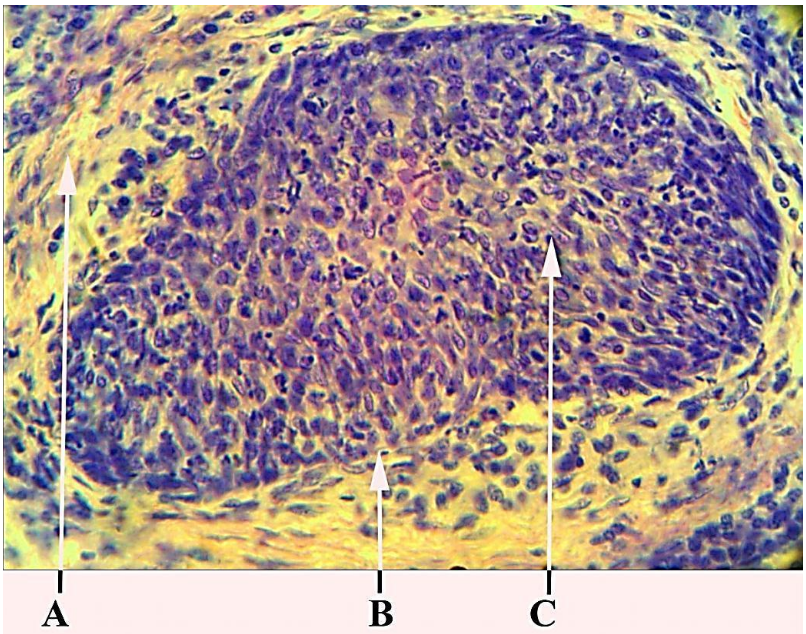


Рисунок 18 – Проліферувальні острівці Малясе. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення × 400: А – тканина періодонтальної щілини; В – базальна мембрана; С – проліферувальні епітеліальні клітини

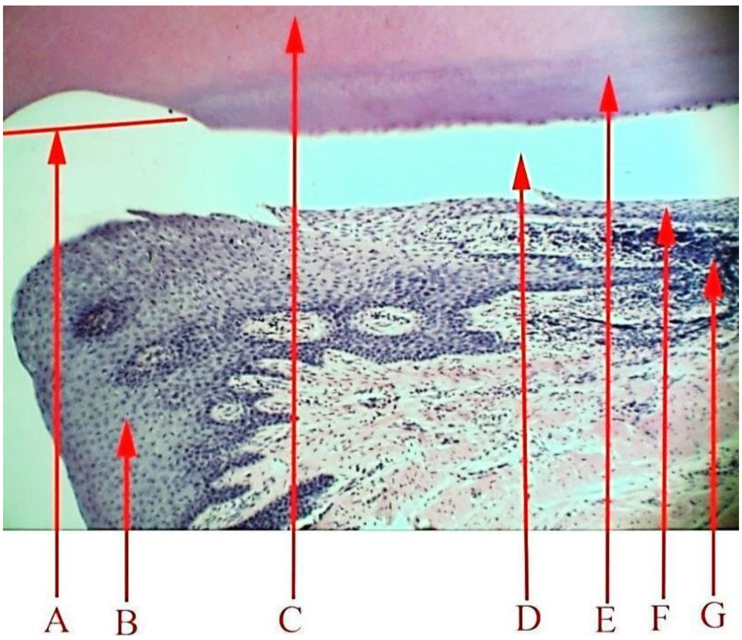


Рисунок 19 – Морфологічна картина при запаленні пародонта. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення × 100: А – некаріозне ураження; В – епітелій ясен; С – дентин; D – пародонтальний карман; Е – цемент; F – епітелій патологічного зубоясенного кармана (епітелій борозни); G – змішана клітинна інфільтрація

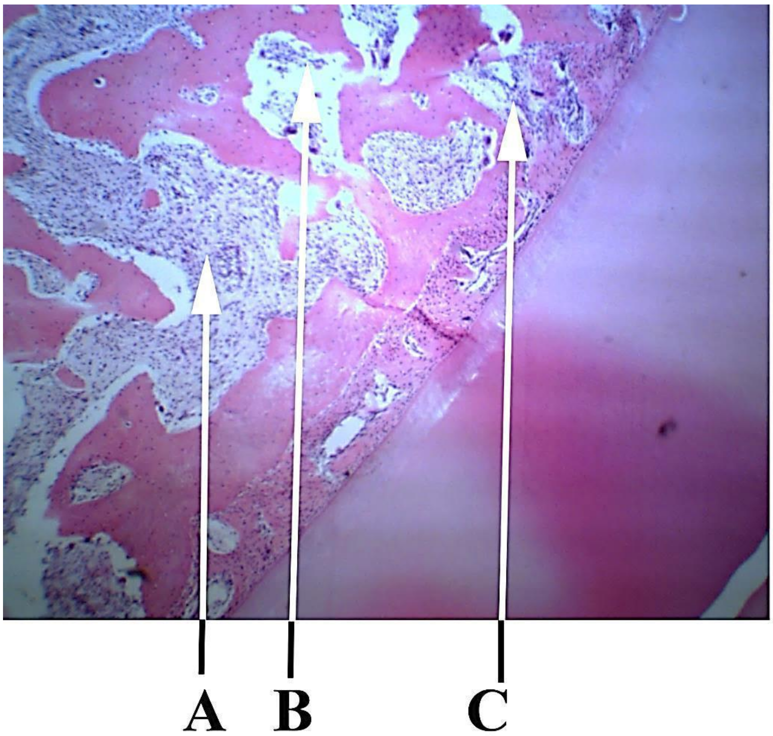


Рисунок 20 – Вертикальна резорбція альвеолярного відростка. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення × 40: A – заміщення кісткової тканини сполучною тканиною; B – лакунарна резорбція; C – відсутність чіткої межі між волокнами періодонта та резорбованою кісткою; D – кістка без змін

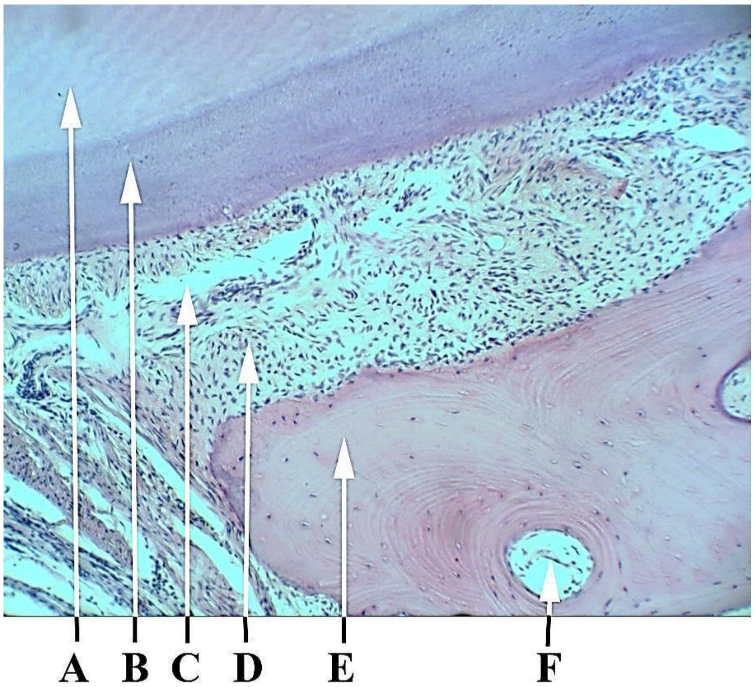


Рисунок 21 – Реактивні зміни у періодонтальній щілині при запаленні. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення ×100: A – дентин кореня; B – цемент кореня; C – набряк та лейкоцитарна інфільтрація в періодонтальній щілині; D – незмінені колагенові волокна; E – кістка; F – судина в ґаверсовому каналі

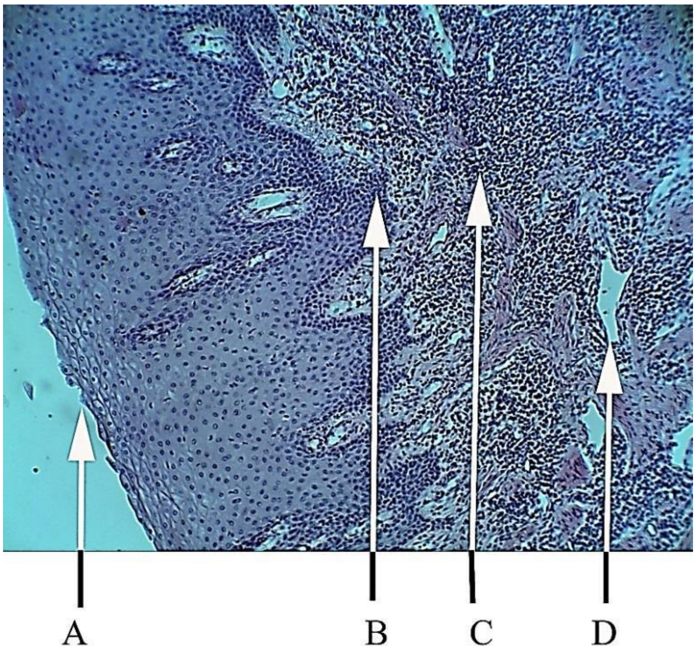


Рисунок 22 – Прогресування пародонтиту. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення ×100: A – ерозований епітелій; B – формування відростків епітелію у сполучну тканину (rete ridges); C – мікроабсцедування у сполучній тканині; D – просвіт судин із периваскулярною запальною інфільтрацією

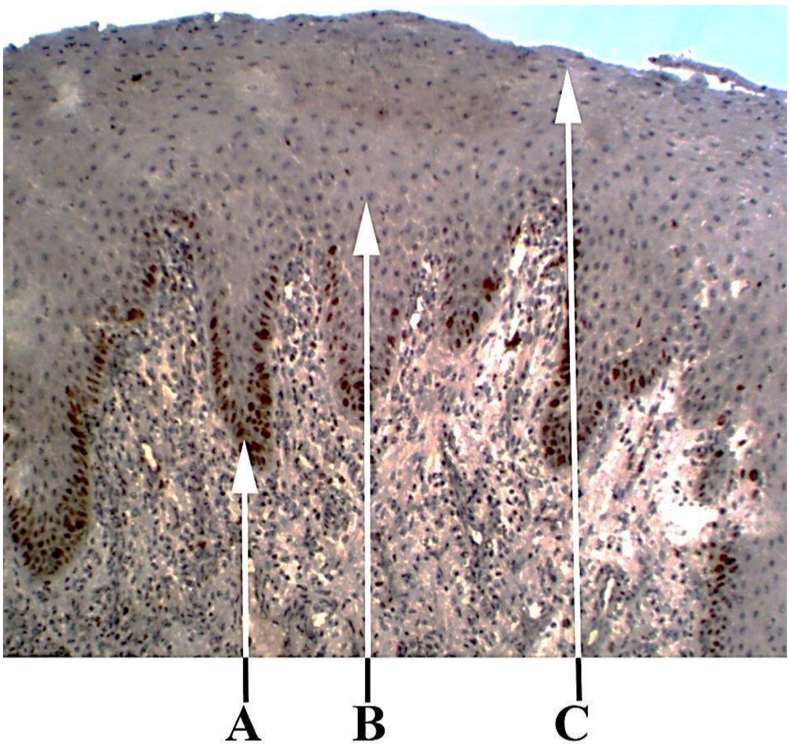


Рисунок 23 – Експресія Ki-67 в епітелії ясен при пародонтиті. Збільшення х 400: A – Ki-67 +–клітини в базальному шарі; B – Ki-67–клітини в шипуватому шарі; C – десквамовані Ki-67–клітини

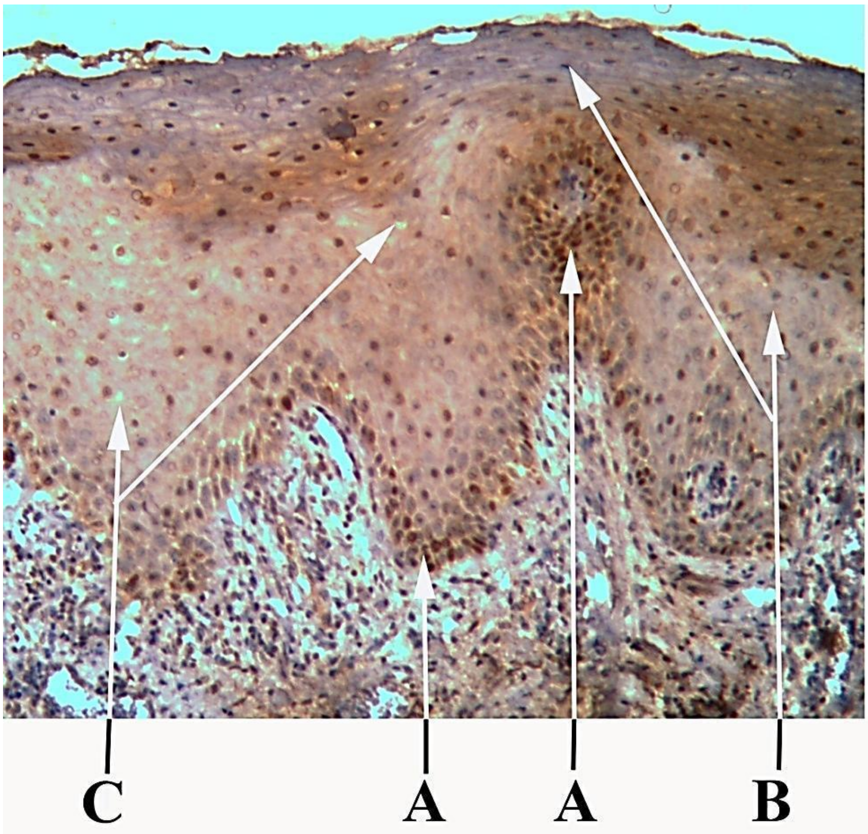


Рисунок 24 – Експресія Ki-67 в епітелії ясен при пародонтиті. Збільшення × 400: А – Ki-67+ -клітини; В – Ki-67 – клітини; С – клітини з вакуольною дистрофією

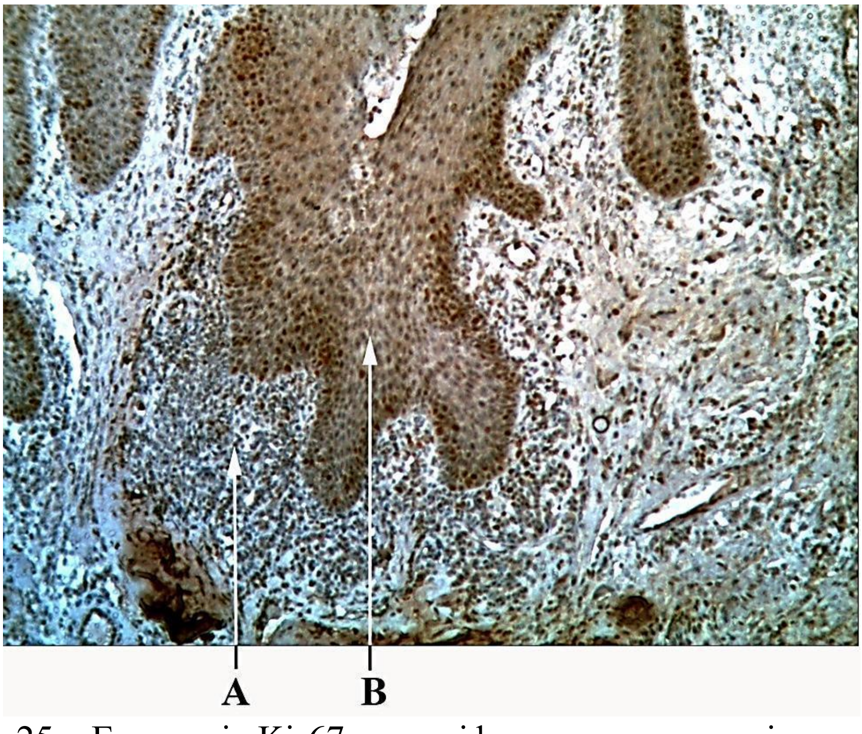


Рисунок 25 – Експресія Ki-67 у проліферувальному тяжі ясенного епітелію. Збільшення × 400: А – змішаноклітинна інфільтрація; В – Ki-67+ –клітини в проліферувальному епітеліальному тяжі

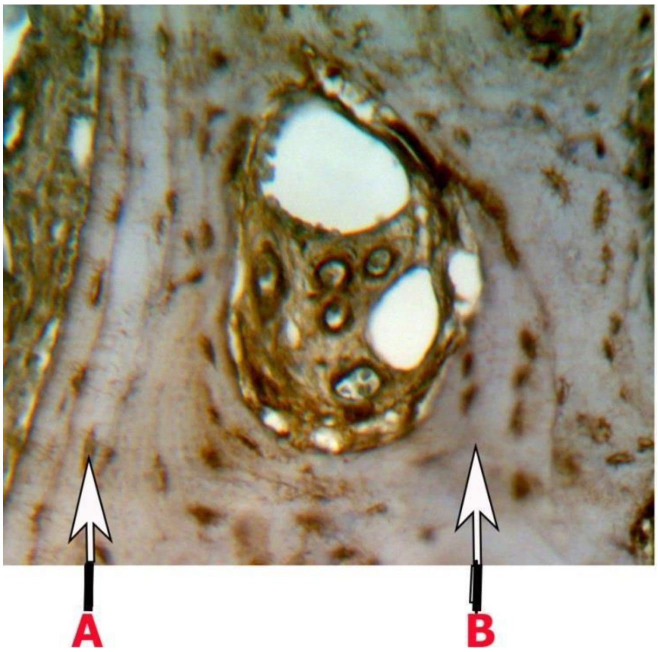


Рисунок 26. Експресія MGMT у кістковій тканині інтактного пародонта. Збільшення × 900: А – остеобласт; В – кістковий матрикс

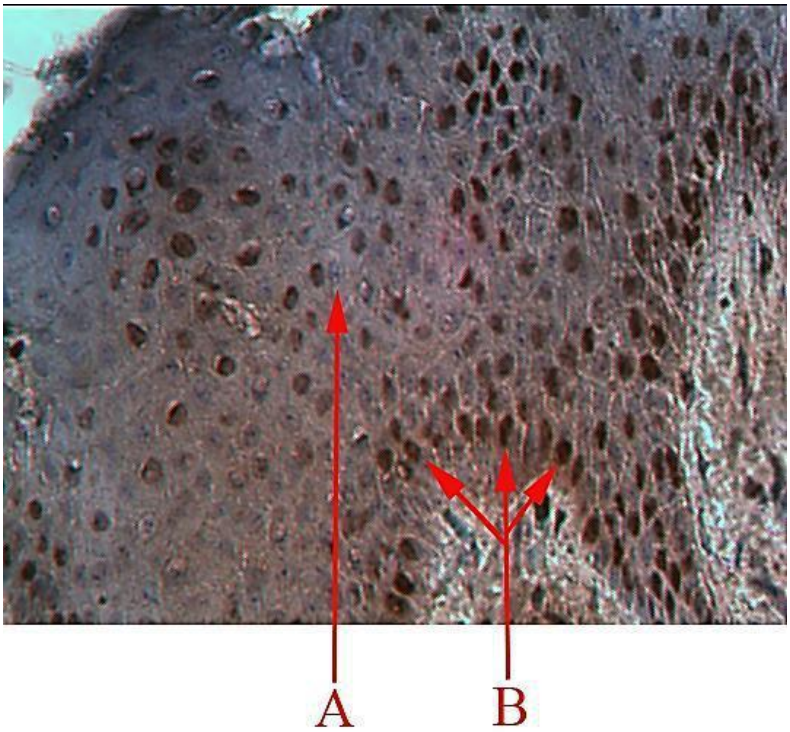


Рисунок 27 – Експресія MGMT в епітелії ясен. Збільшення × 400: А – ядра з відсутністю експресії MGMT; В – експресія MGMT у клітинах базального шару багатошарового епітелію ясен

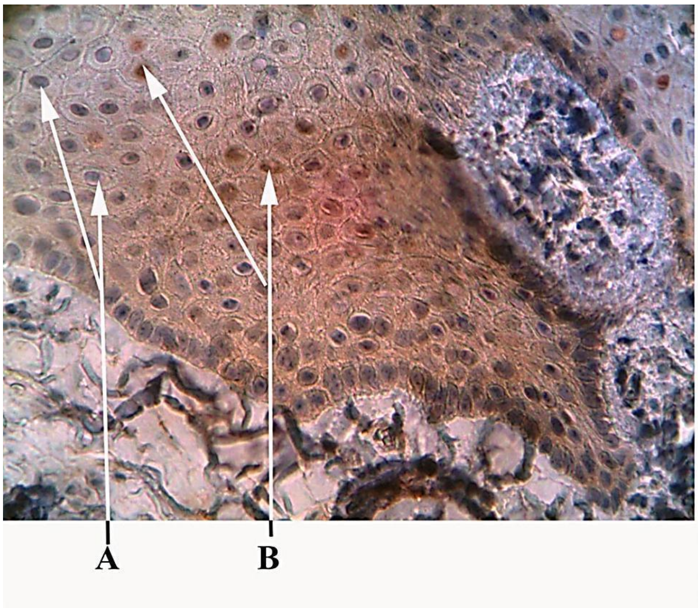


Рисунок 28 – Експресія MGMT в епітелії ясен при пародонтиті. Збільшення × 400: А – ядра з відсутністю експресії MGMT; В – експресія MGMT у клітинах шипуватого шару багатошарового епітелію ясен

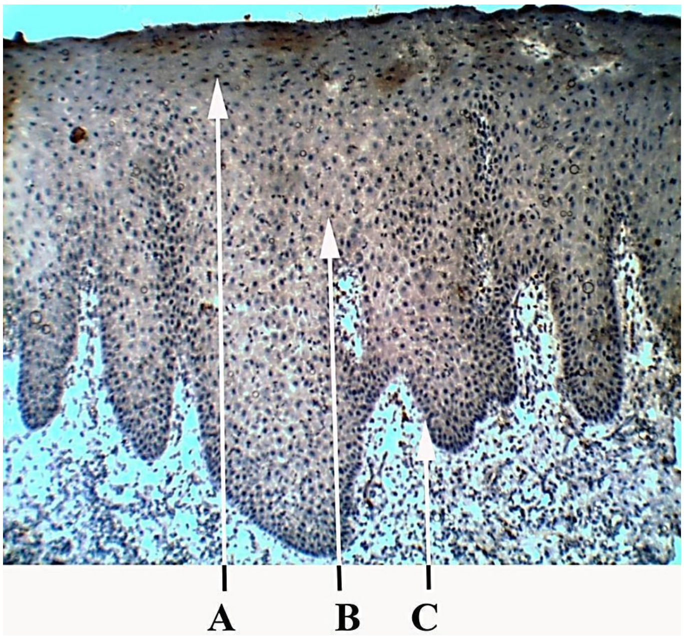


Рисунок 29 – Експресія MMP-1 в ясенному епітелії (контроль). Збільшення × 100: А – відсутність експресії MMP-1 у зернистому шарі; В – відсутність експресії MMP-1 у шипуватому шарі ясенного епітелію; С – відсутність експресії MMP-1 у базальному шарі ясенного епітелію

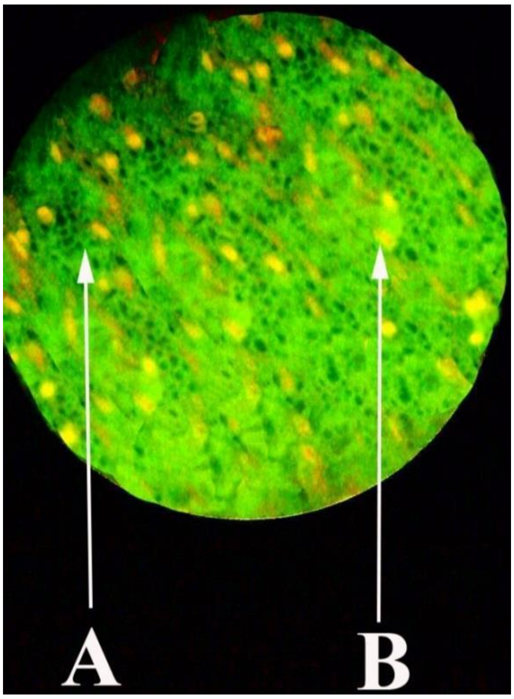


Рисунок 30 – Колаген у власній пластинці. Мікроскопія в ультрафіолетовому світлі. Збільшення ×400: А – колаген; В – фібробласти

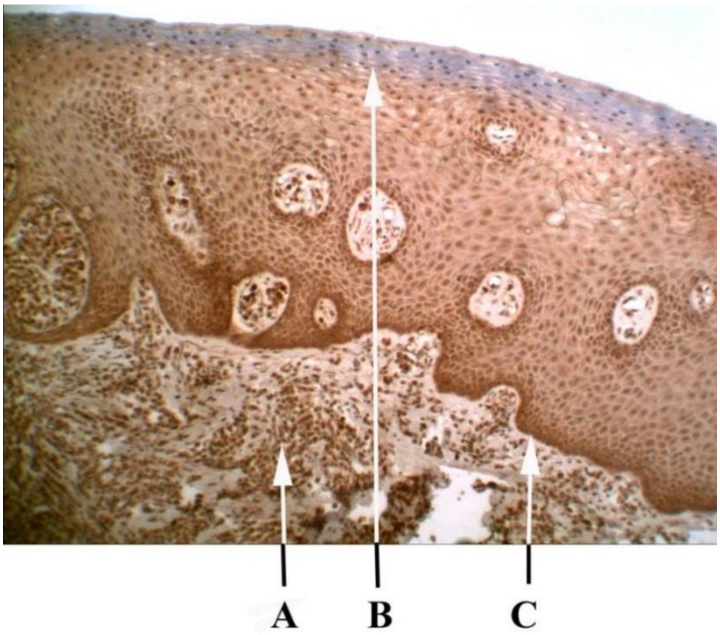


Рисунок 31 – Експресія ММР-1 у проліферувальному ясенному епітелії у хворих із запаленням та атеросклерозом. Збільшення ×100: А – експресія ММР-1 у змішаноклітинному інфільтраті; В – відсутність експресії ММР-1 у зернистому шарі ясенного епітелію; С – значна експресія ММР-1 у базальному шарі ясенного епітелію

.

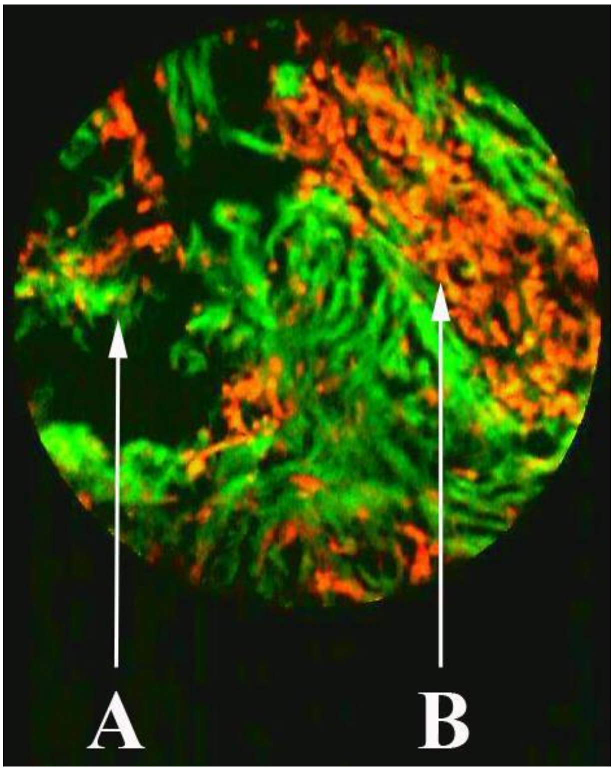


Рисунок 32 – Зміни колагену у власній пластинці у хворих із запаленням пародонта та атеросклерозом. Збільшення × 400: А – зруйнований колаген; В – клітинна інфільтрація

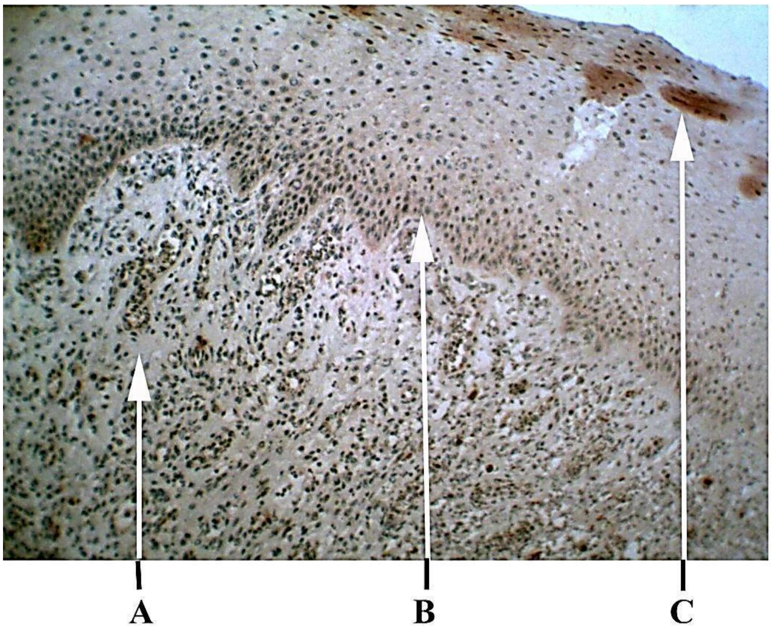


Рисунок 34 – Зміни колагену у власній пластинці пародонта у хворих із запаленням та атеросклерозом. Збільшення × 400: А – незначно зруйнований колаген; В – клітинна інфільтрація

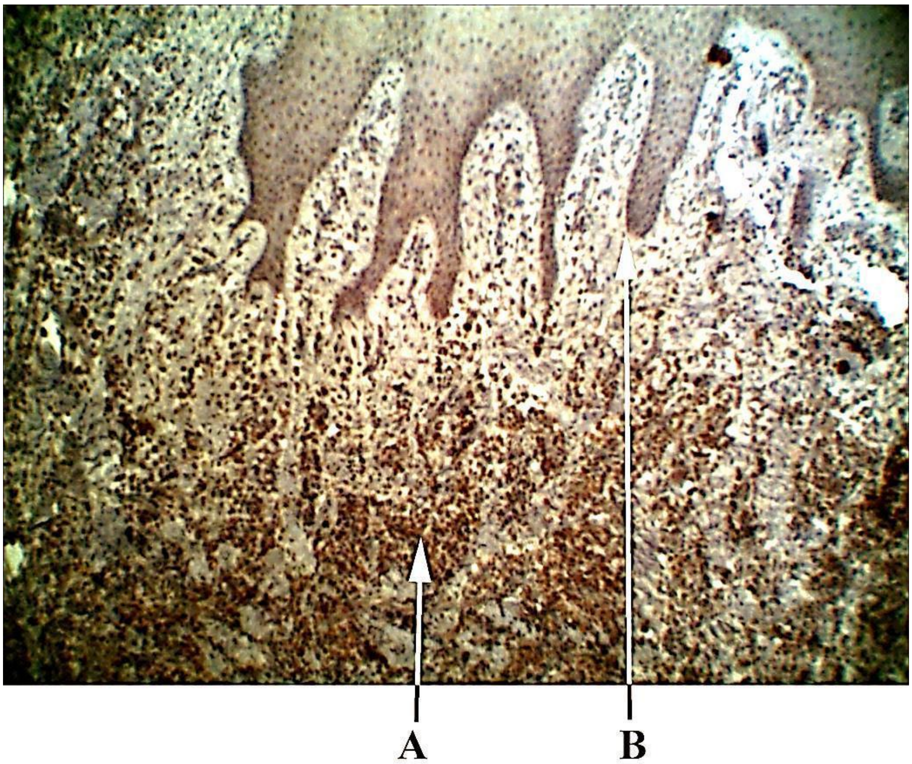


Рисунок 35 – Експресія OPN у проліферувальному ясенному епітелії у хворих із запаленням пародонта. Збільшення ×100: А – експресія OPN у власній пластинці зі змішаноклітинною інфільтрацією; В – значна експресія OPN у базальному шарі ясенного епітелію

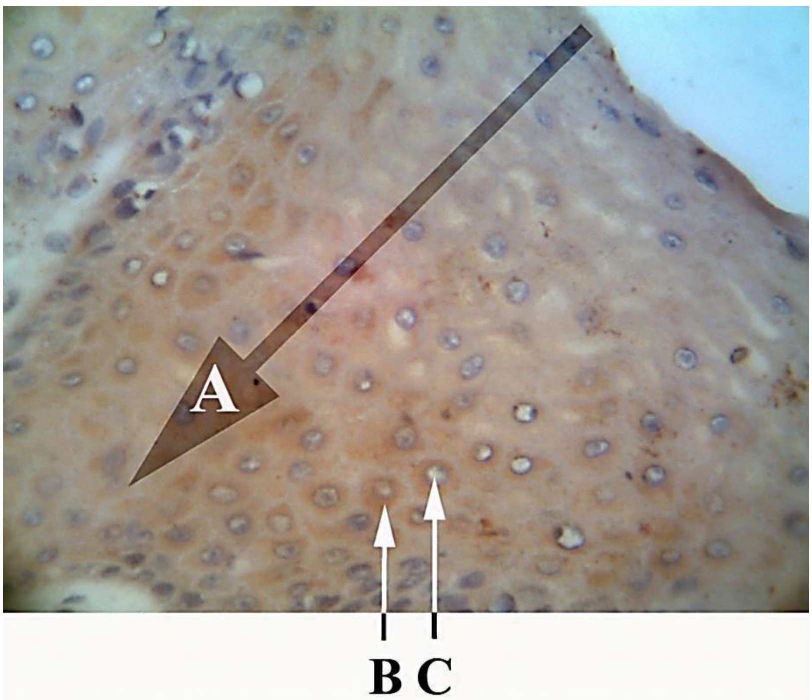


Рисунок 36 – Посилення експресії OPN залежно від шарів епітелію. Збільшення × 400: А – напрямок посилення експресії; В – експресія OPN; С – ядро

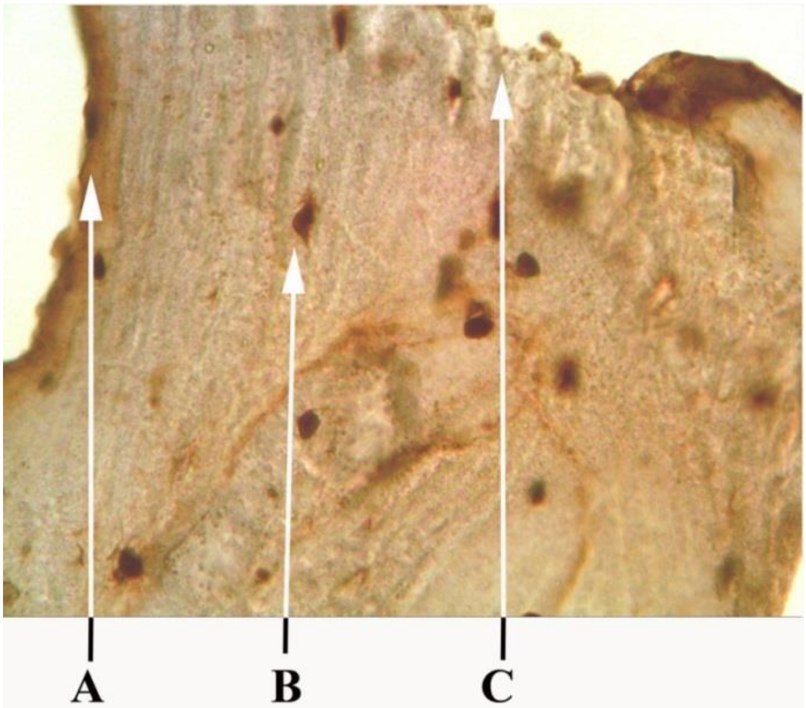


Рисунок 37 – Експресія OPN у кістковій тканині при запаленні пародонта. Збільшення × 400: А – експресія OPN у кортикальному шарі кістки; В – значна експресія OPN в остеобласті; С – запальна резорбція кісткової тканини

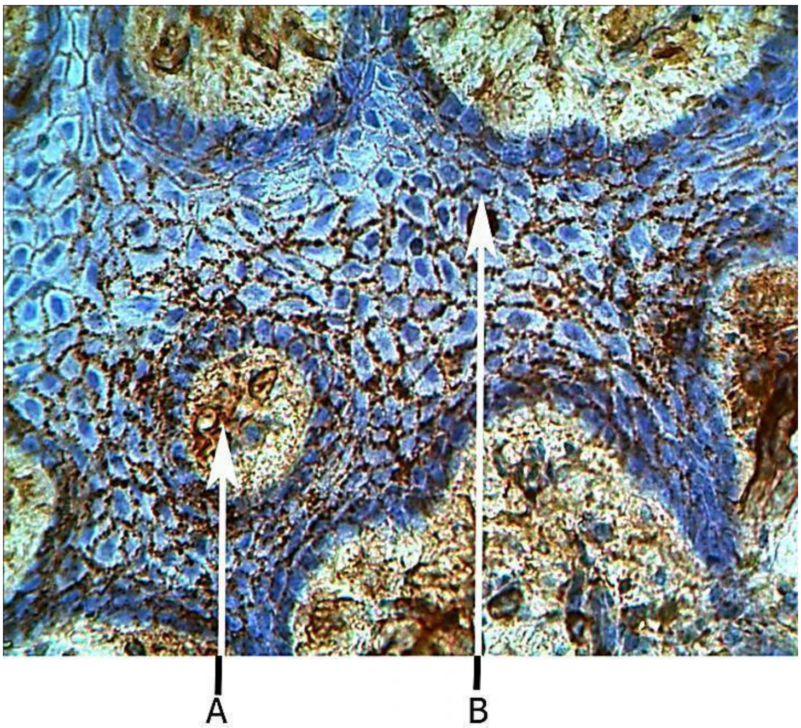


Рисунок 38 – Імуногістохімічне виявлення IgG у тканинах пародонта при запаленні. Збільшення × 400: А – IgG – позитивна реакція сполучної тканини; В – IgG – позитивна реакція епітеліальних клітин

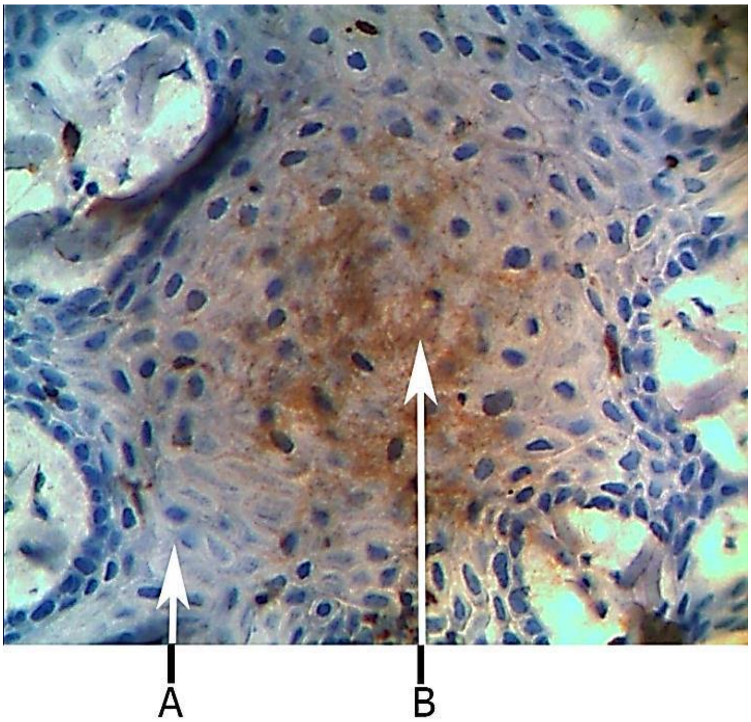


Рисунок 39 – Імуногістохімічне виявлення IgM у тканинах пародонта при запаленні. Збільшення × 400: А – IgM– негативна реакція епітелію; В – IgM– позитивна реакція епітеліальних клітин

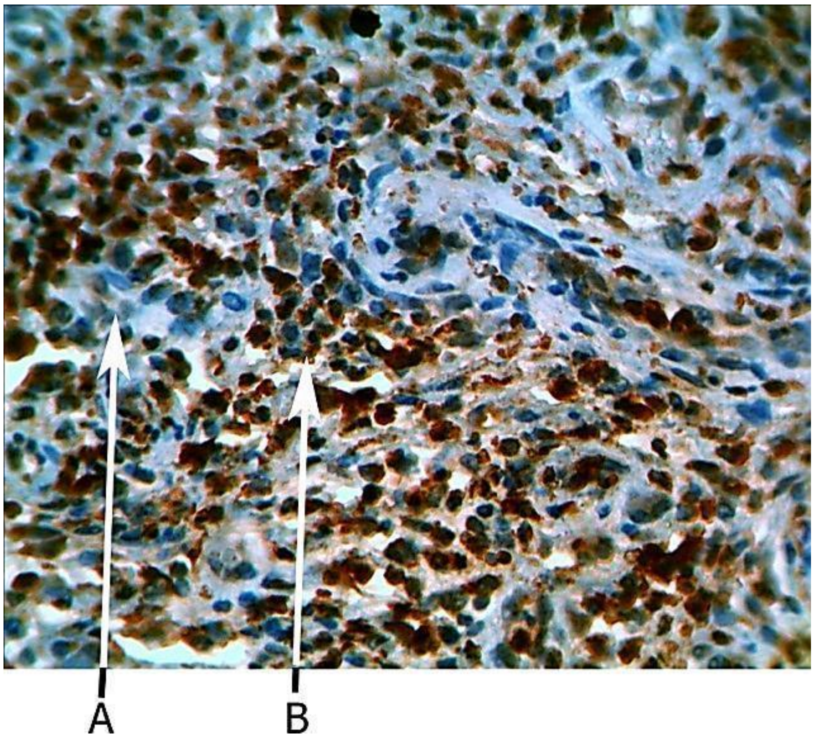


Рисунок 40 – Імуногістохімічне виявлення МРО у тканинах пародонта при запаленні. Збільшення × 400: А – МРО – негативна реакція епітелію; В – МРО позитивна реакція клітин інфільтрату

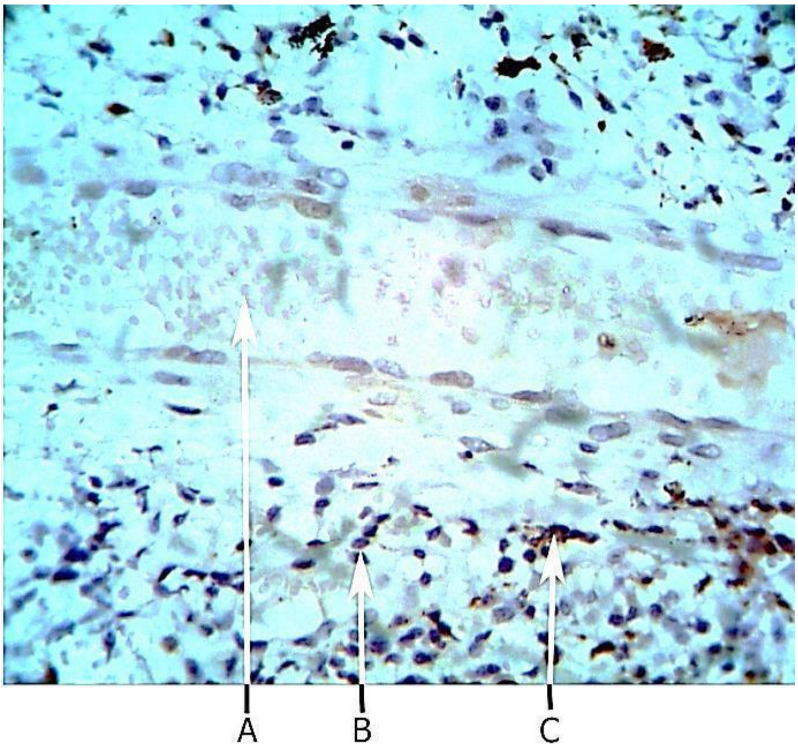


Рисунок 41 – Імуногістохімічне виявлення клітин CD68 у тканинах пародонта при запаленні під час міграції із судинного русла. Збільшення × 400: А – просвіт судини з ознаками уповільнення кровотоку; В – CD68 – негативна реакція лейкоцитів; С – CD68 – позитивна реакція клітин інфільтрату

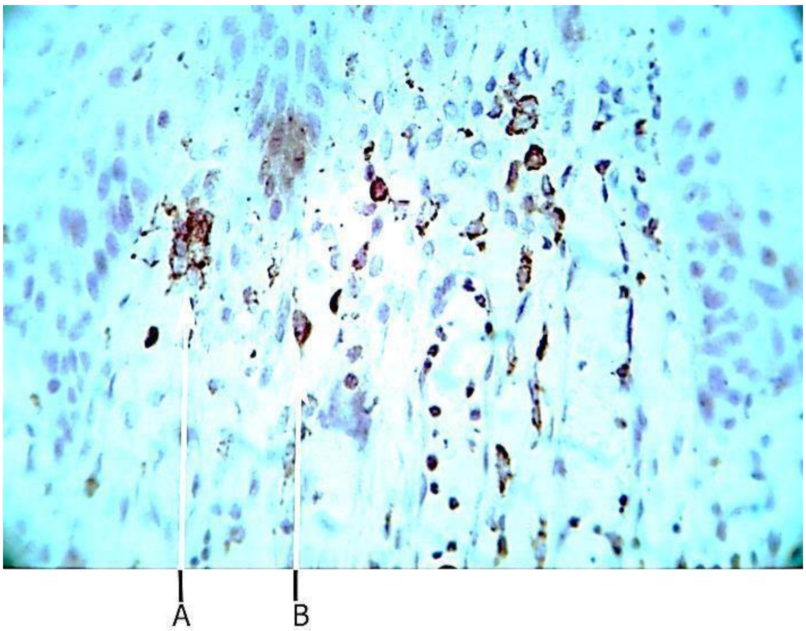


Рисунок 42 – Імуногістохімічне виявлення CD68 у тканинах пародонта при запаленні. Збільшення × 400: А – CD68 – субепітеліальне формування багатоядерних клітин моноцитарного походження; В – одноядерні CD68 – позитивні клітини інфільтрату

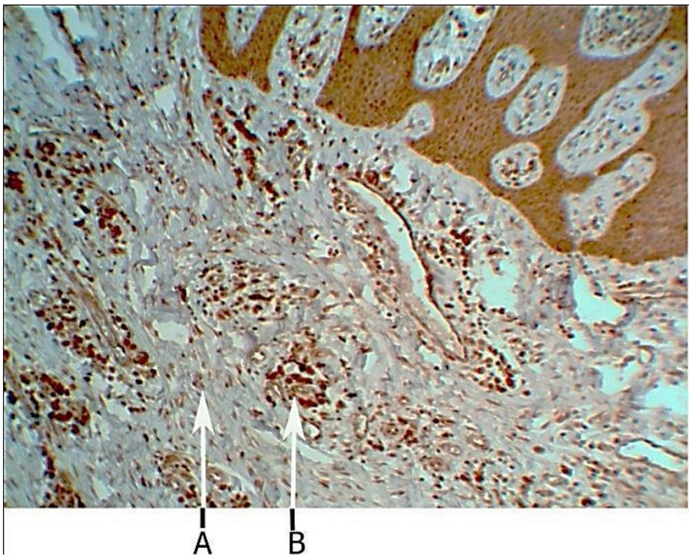


Рисунок 43 – Імуногістохімічне виявлення S100 у тканинах пародонта при гострому запаленні. Збільшення × 100: А – S100– поодинокі позитивні клітини моноцитарного походження; В – S100 – позитивні клітини інфільтрату нодулярного типу

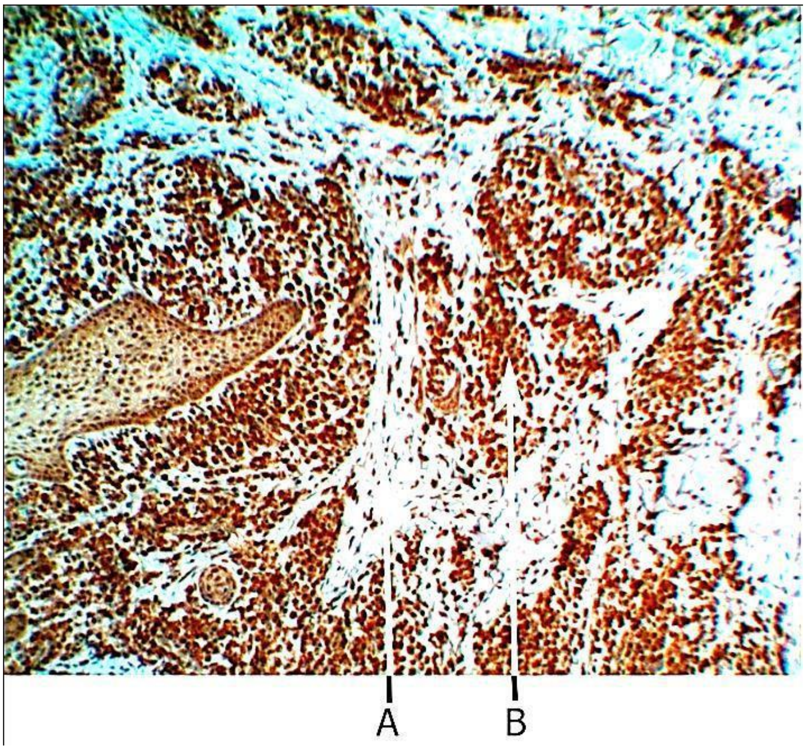


Рисунок 44 – Імуногістохімічне виявлення S100 у тканинах пародонта при загостренні хронічного запалення. Збільшення × 100; А – S100 – негативна реакція сполучного компонента ясен; В – S100 – позитивні клітини інфільтрату дифузного типу

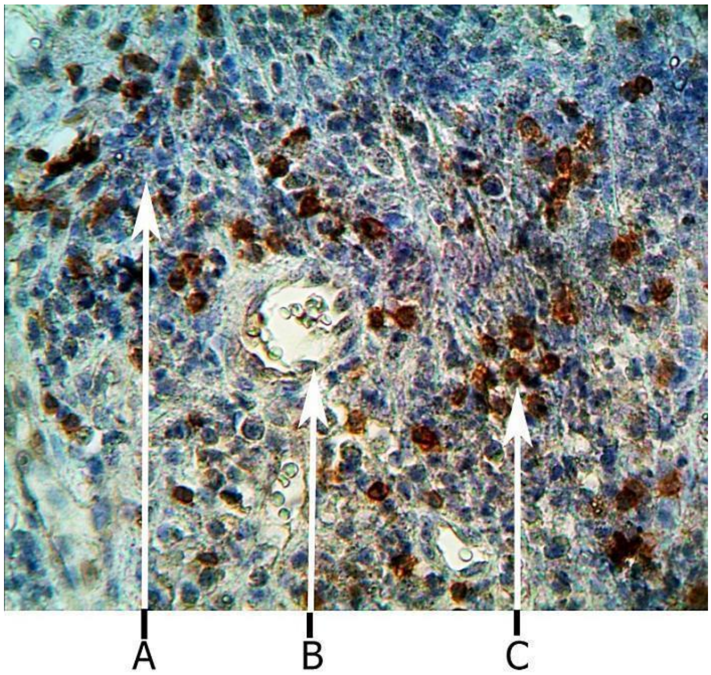


Рисунок 45 – Імуногістохімічне виявлення CD3- позитивних клітин у тканинах пародонта при запаленні. Збільшення × 400: А – CD3 – негативні клітини; В – судина; С – скупчення CD3-позитивних клітин

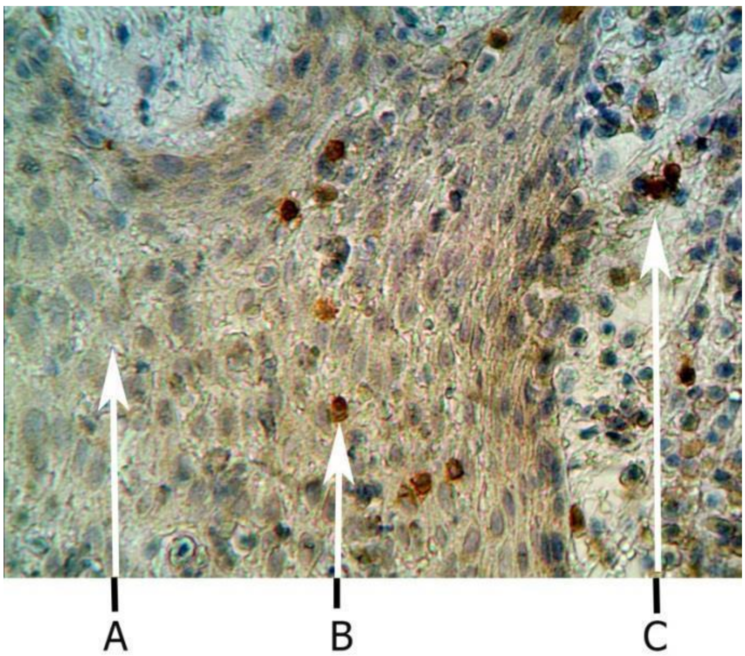


Рисунок 46 – Імуногістохімічне виявлення CD3-позитивних клітин у тканинах пародонта при запаленні. Збільшення × 400: А – епітелій ясен; В – CD3 – позитивні клітини в епітелії ясен; С – CD3 – позитивні клітини у сполучній тканині

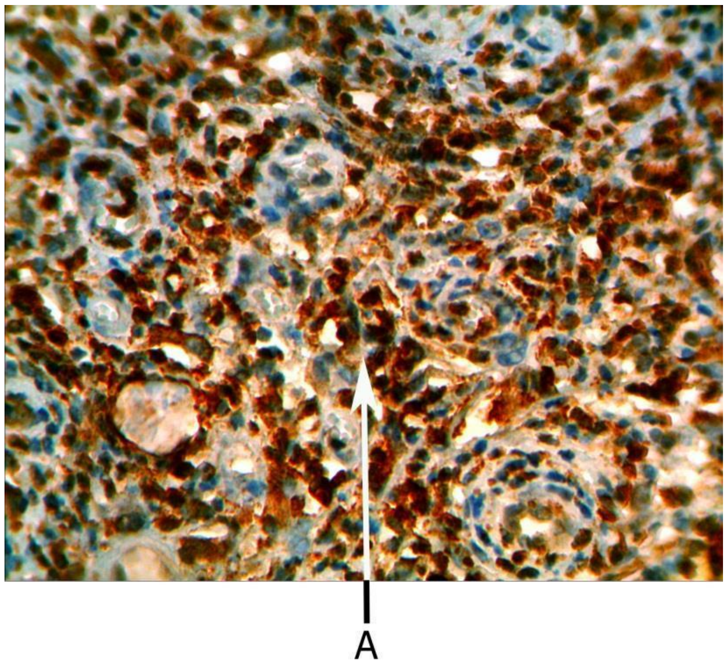


Рисунок 47 – Імуногістохімічне виявлення CD79A– позитивних клітин у тканинах пародонта при запаленні. Збільшення × 400: А – позитивна експресія CD79A в інфільтраті

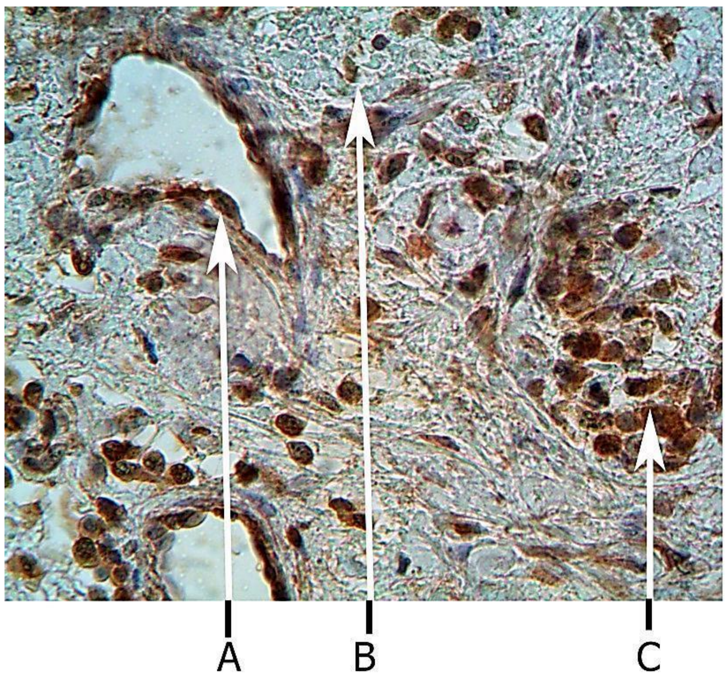


Рисунок 48 – Імуногістохімічне виявлення VEGF- позитивних клітин у тканинах пародонта при запаленні. Збільшення × 400: А – експресія VEGF в ендотелії судин; В – експресія VEGF клітинами інфільтрату; С – експресія VEGF клітинами інфільтрату у складі запального інфільтративного вузла

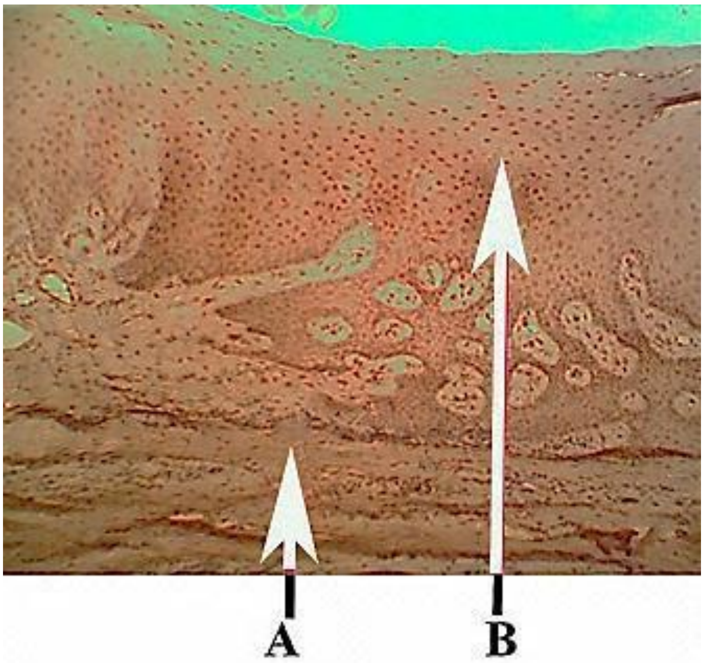


Рисунок 49 – Імуногістохімічне виявлення HSP90AA – позитивних клітин у тканинах пародонта при запаленні. Збільшення × 100: А – експресія HSP90AA в інфільтраті та фіброзній тканині; В – HSP90AA – позитивні клітини в епітелії ясен

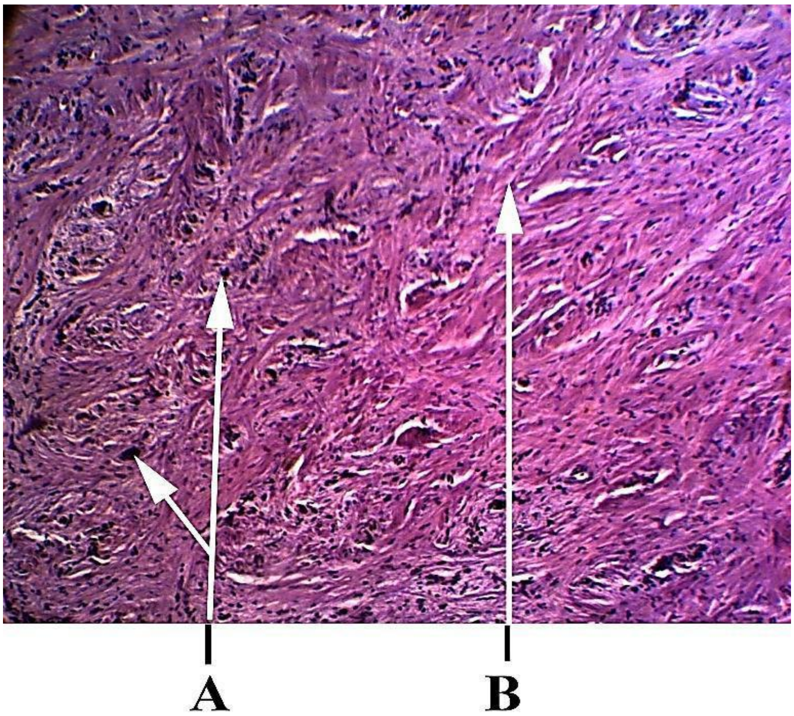


Рисунок 50 – Фіброзний епуліс. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення × 100: А – запальні клітинні інфільтрати; В – пучки зрілої сполучної тканини

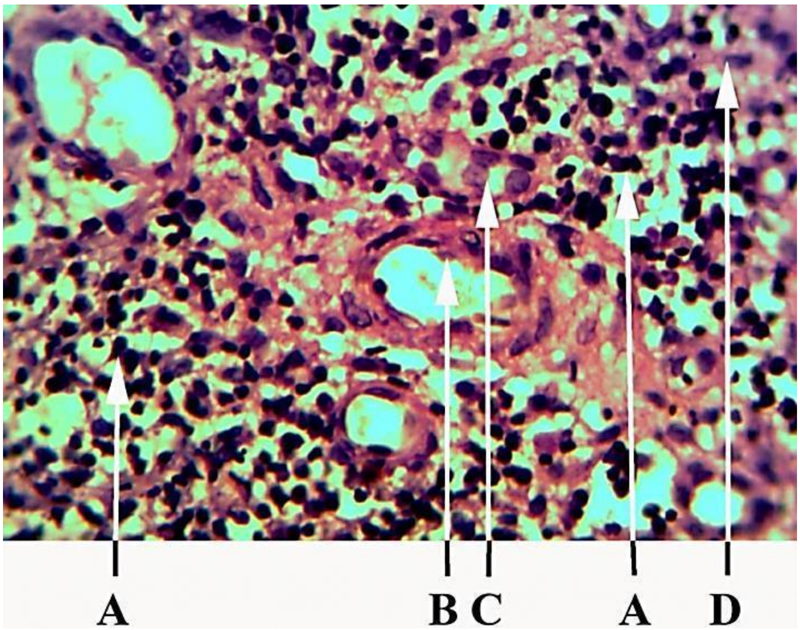


Рисунок 51 – Молода грануляційна тканина. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення × 400: А – змішаноклітинна інфільтрація; В – судина; С – судина на стадії формування; D – фібробласти

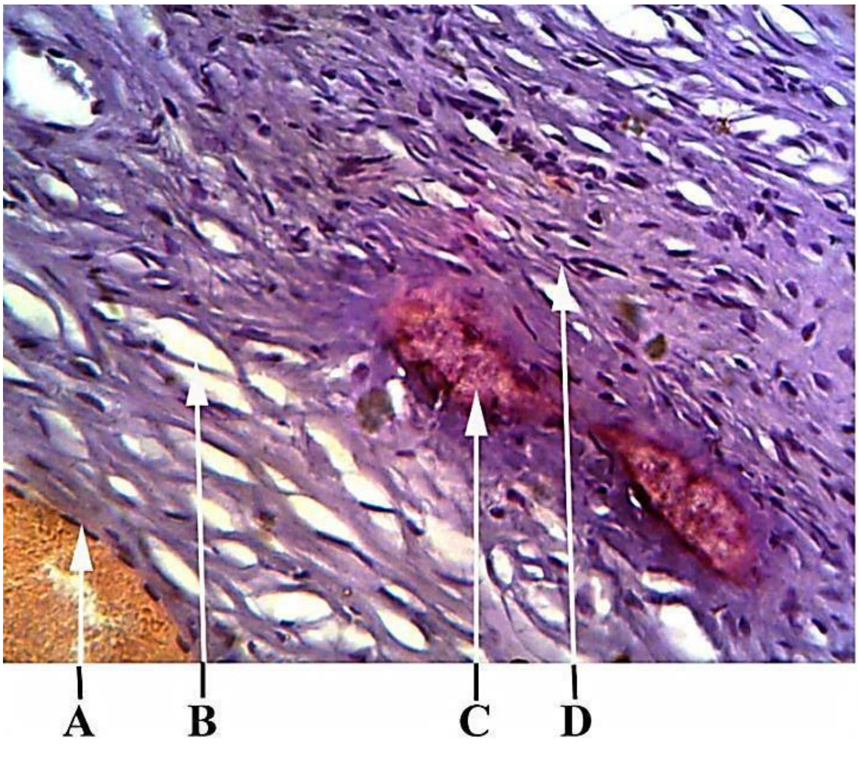


Рисунок 52 – Фіброзний епуліс з утворенням кісткових балочок. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення × 400: А – ендотелій судин; В – набряк; С – петрифікати; D – фіброзні волокна

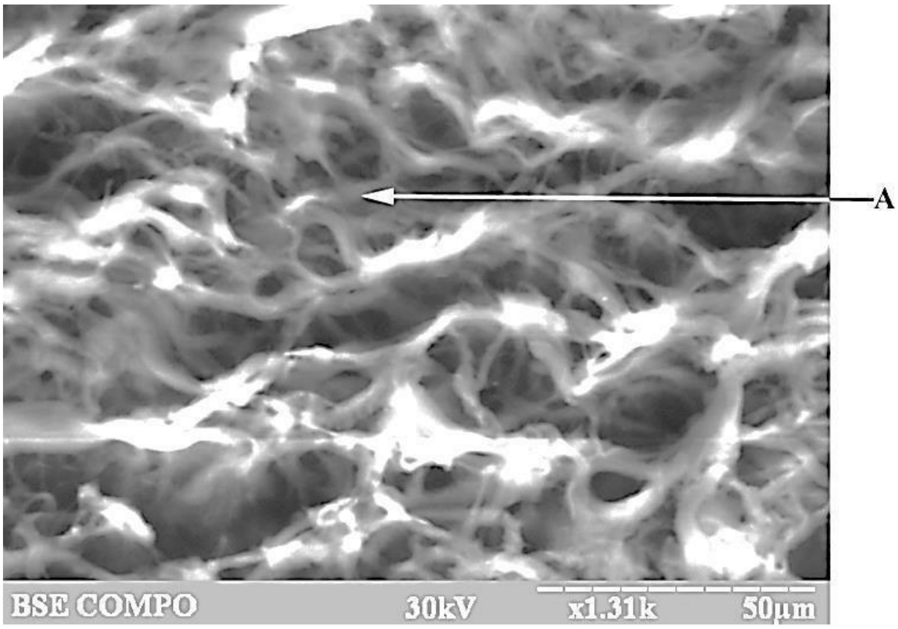


Рисунок 53 – SEM мікроскопія фіброзного епулісу. Збільшення ×1310: А – колагенові волокна з ознаками дистрофії та набряку

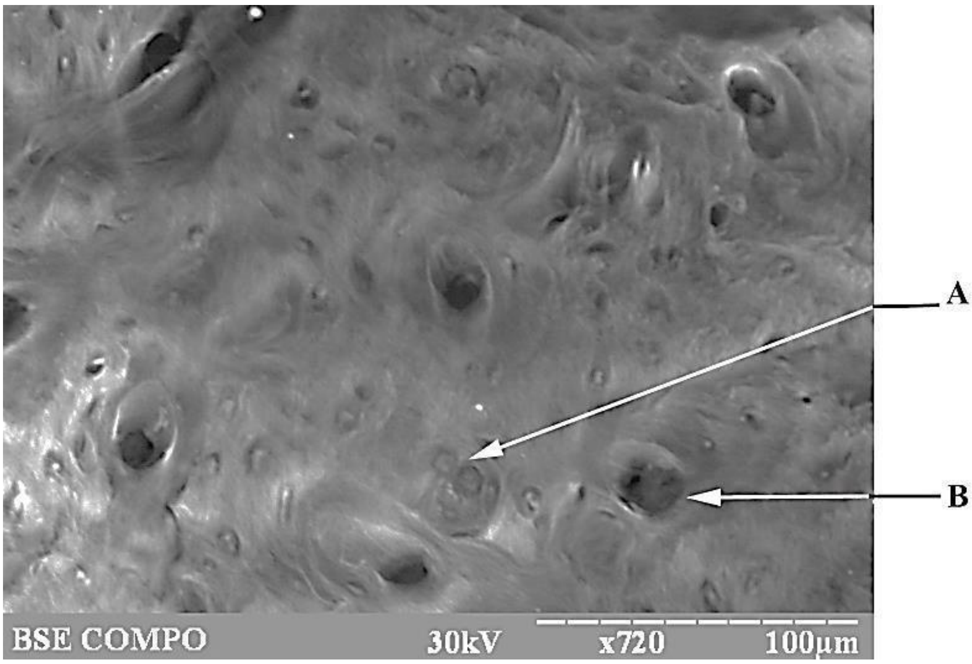


Рисунок 54 – SEM– мікроскопія остеоїдної тканини фіброзного епулісу. Збільшення × 720: А – остеобласти; В – судини

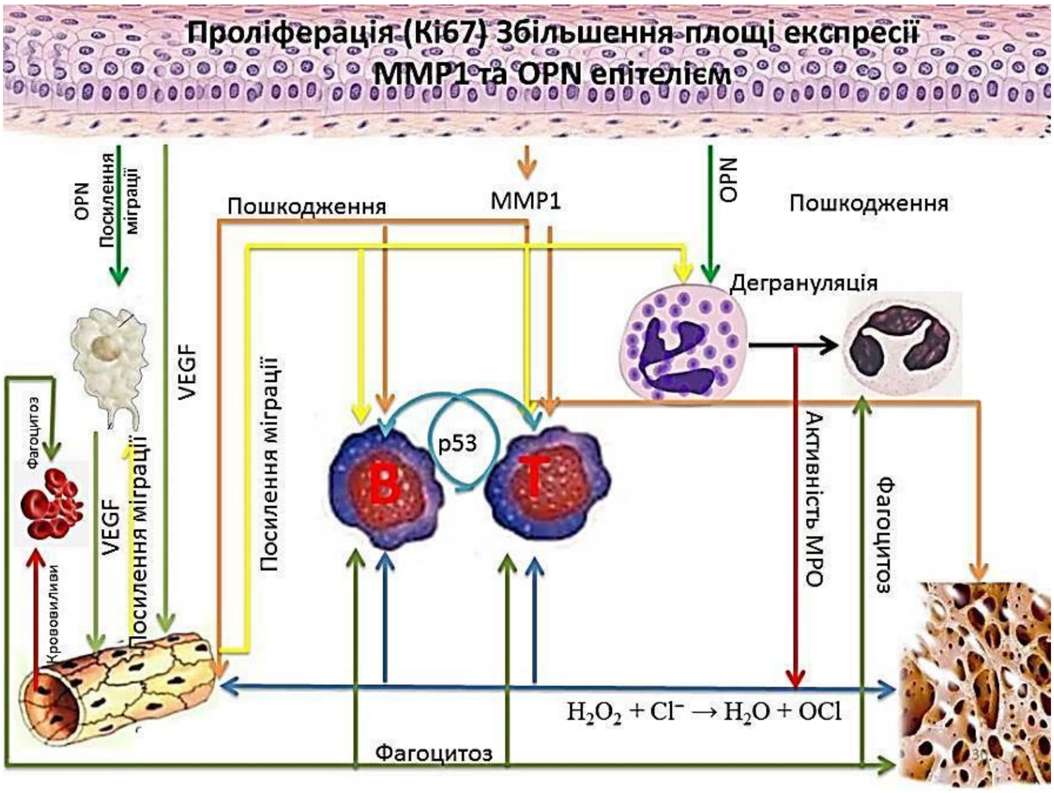


Рисунок 55 – Схема взаємозв'язку досліджуваних маркерів у тканині фіброзного епулісу

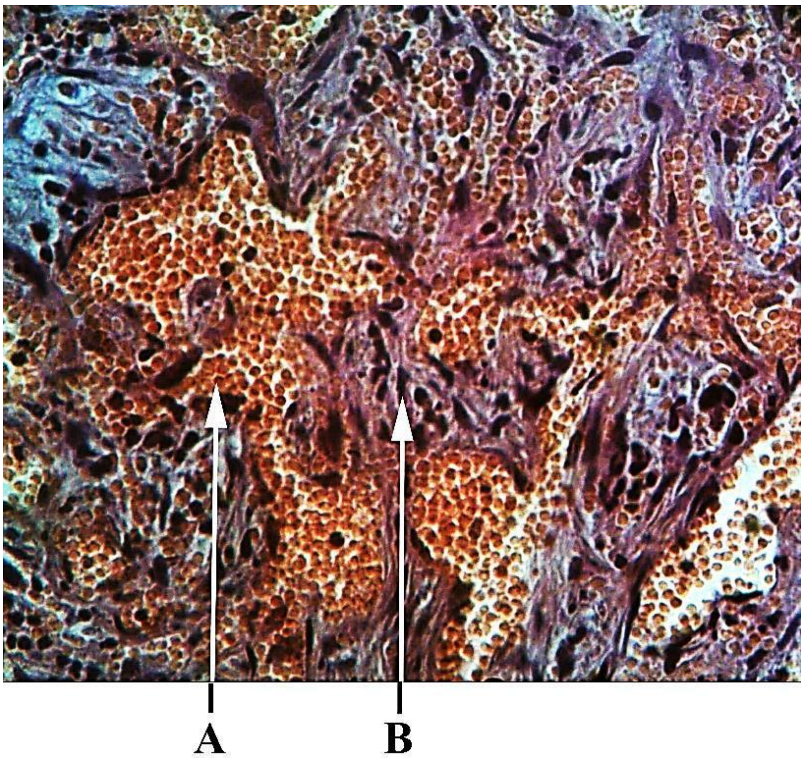


Рисунок 56 – Ангіоматозний епуліс (ангіогранульома). Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення × 400: А – судинні озера; В – фіброзна тканина

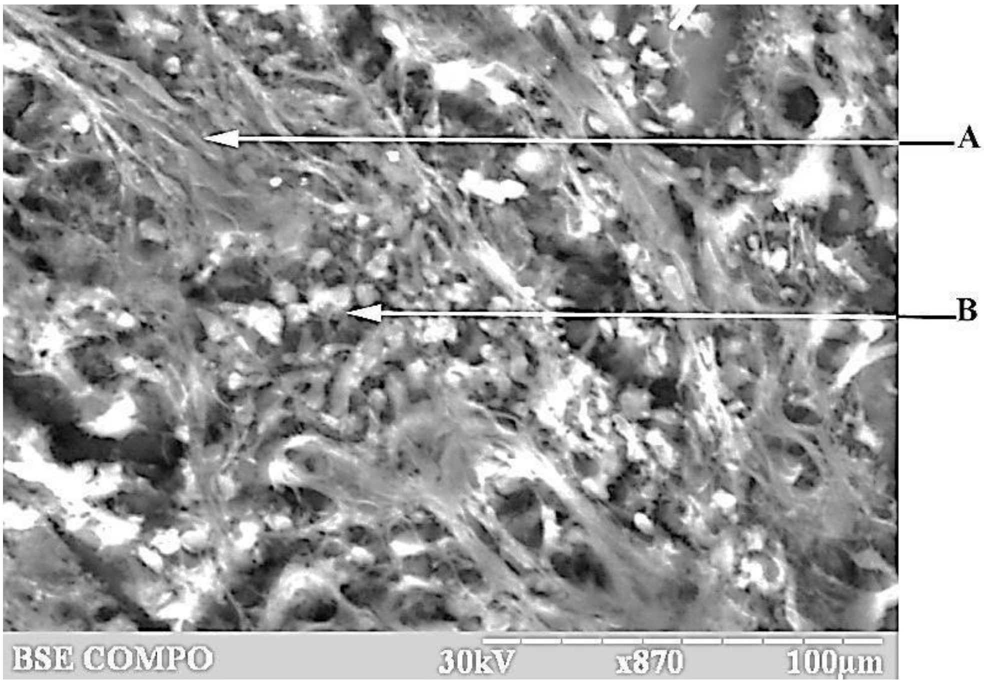
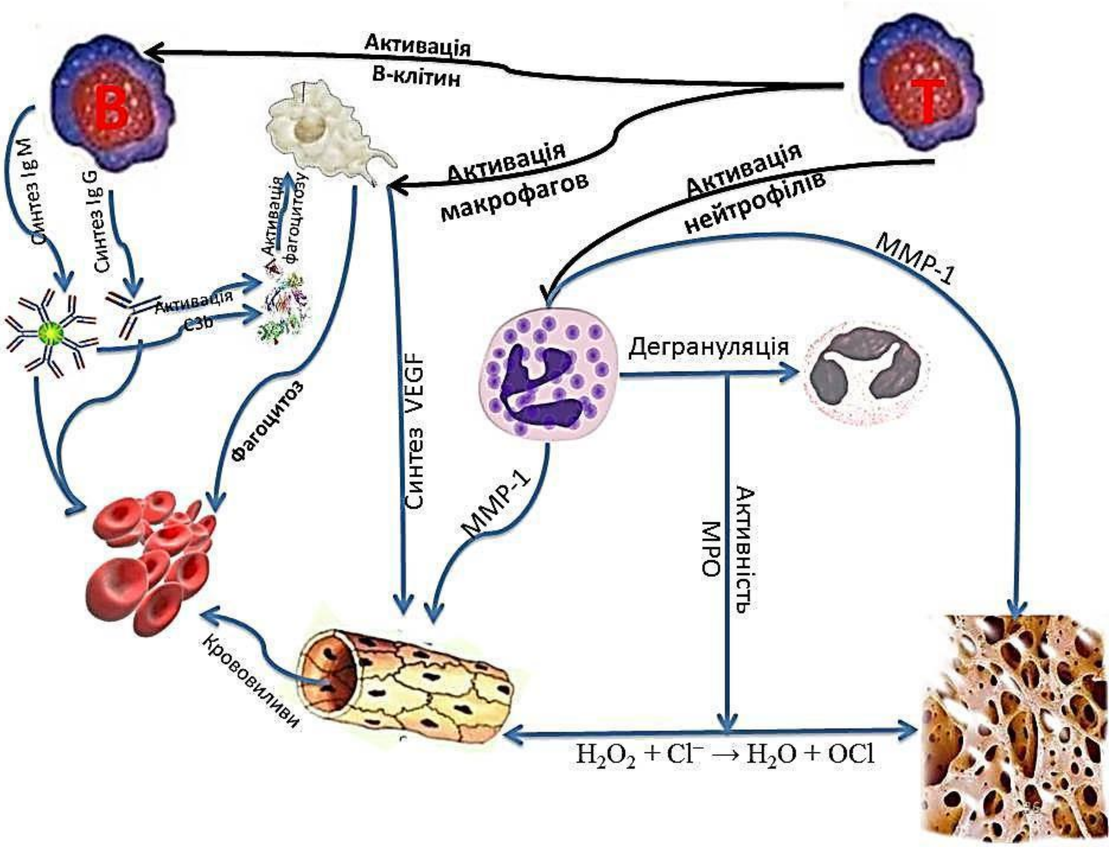


Рисунок 57 – SEM-мікроскопія ангіоматозного епулісу.
Збільшення × 870: А – сполучнотканинні волокна; В – еритроцити



Рисунокунок 58 – Схема взаємозв’язку досліджуваних маркерів
у ангіоматозному епулісі

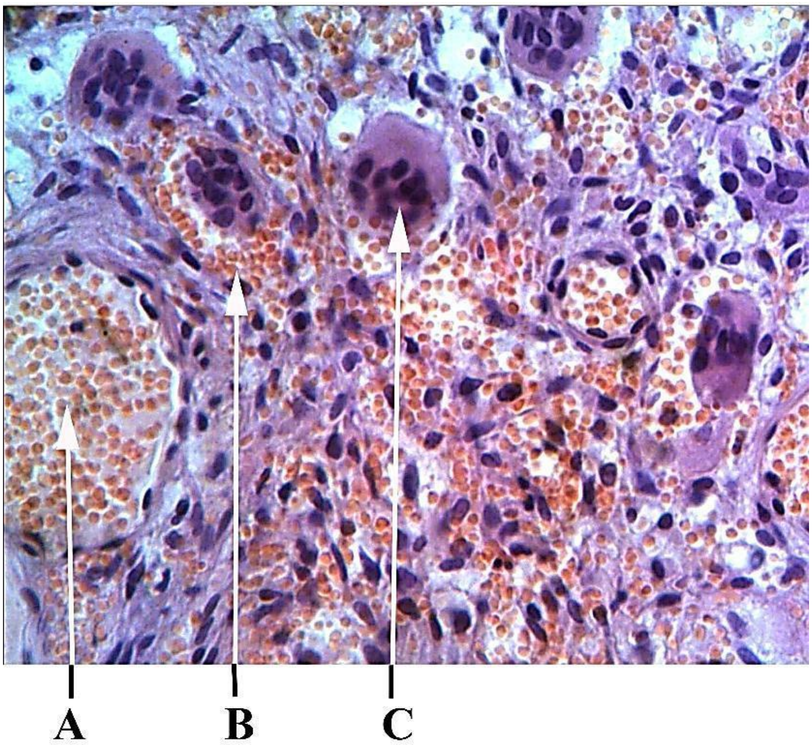


Рисунок 59 – Гігантоклітинний епуліс. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення × 400: А – просвіт судини; В – еритроцити; С – гігантські клітини

Рисунок 60 – SEM мікроскопія гігантоклітинного епулісу. Збільшення × 1330: А – ядра; В – гігантські клітини; С – еритроцити

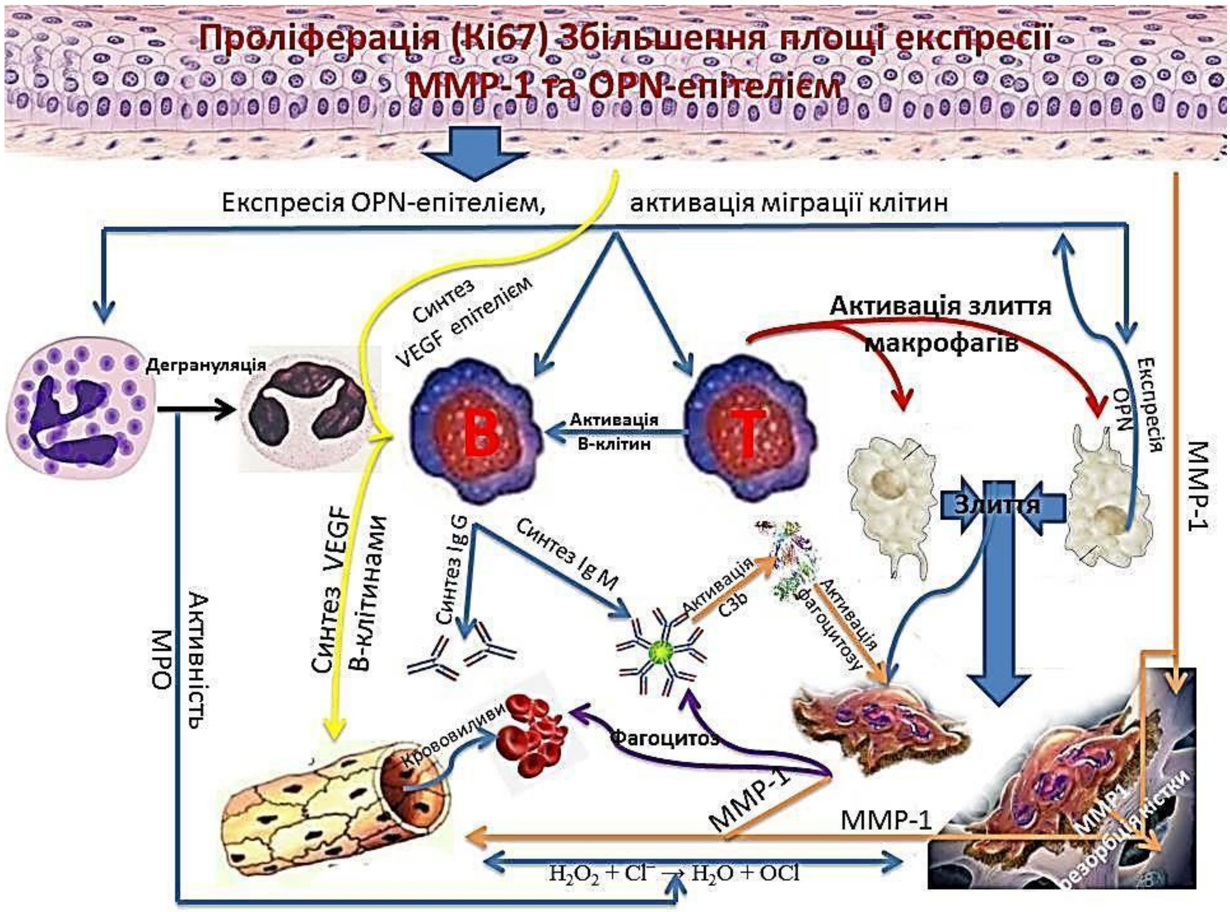


Рисунок 61 – Схема взаємозв’язку досліджуваних маркерів у морфогенезі гігантоклітинного епулісу

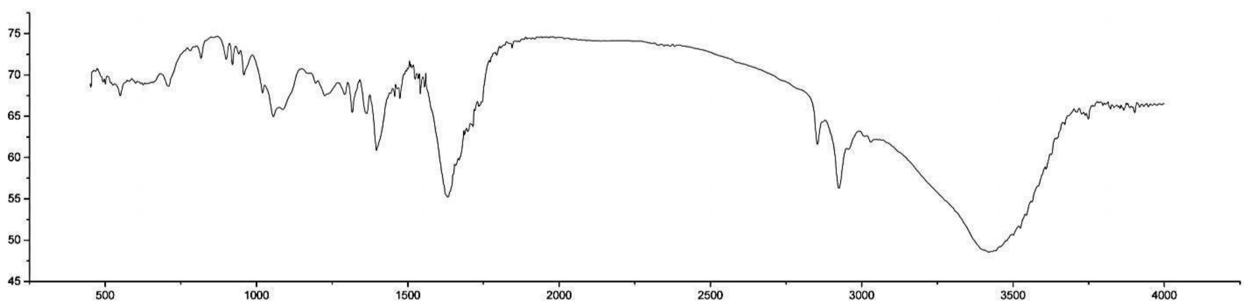


Рисунок 62 – Інфрачервоний спектр ДНК гігантоклітинного епулісу

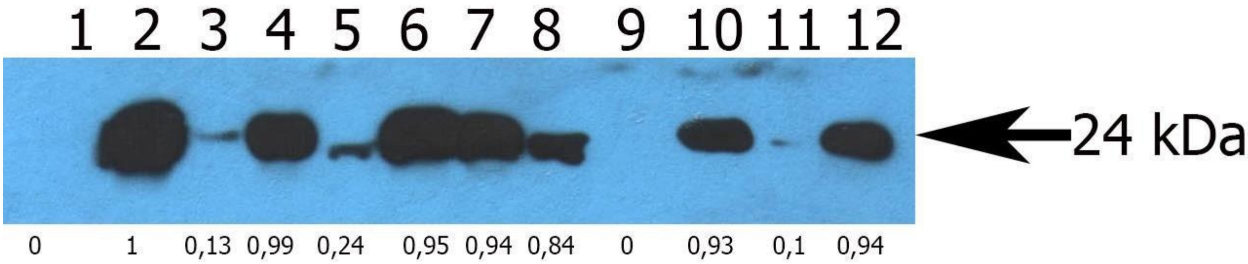


Рисунок 63 – Вестерн-блот-аналіз 12 зразків тканин.

Доріжки: 10, 12 – тканини ангіоматозних епулісів; 3, 5, 11 – тканини фіброзних епулісів;
2, 4 – тканини гігантоклітинних епулісів;
6, 7 – нормальні тканини пародонта;
1, 9, 11 – тканини пародонта із запаленням

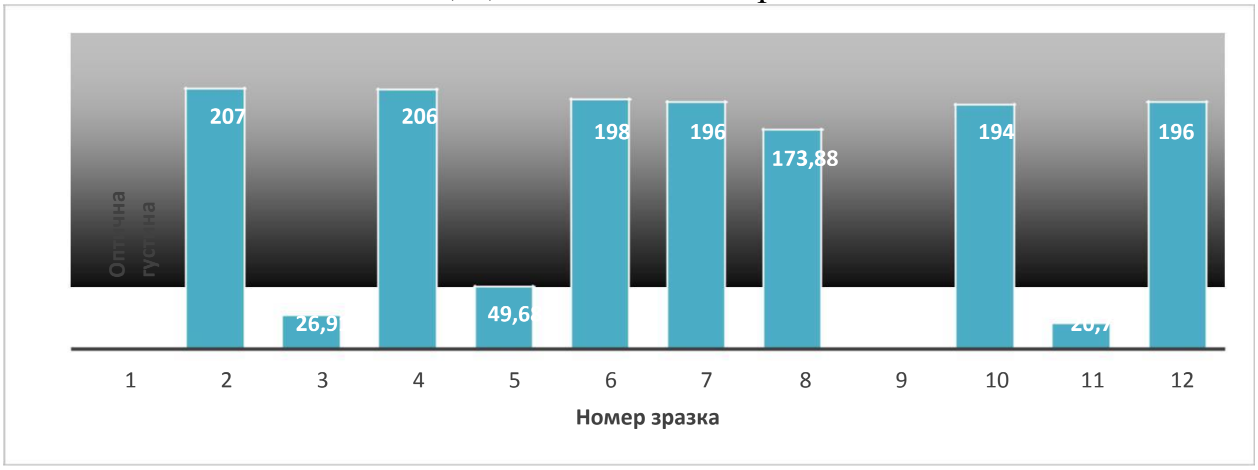


Рисунок 64 – Денситограма результатів вестерн-блот-аналізу 12 зразків тканин

Наукове видання

Кузенко Євген Вікторович,
Романюк Анатолій Миколайович

Запальні захворювання пародонта: патогенез та морфогенез

Монографія

Художнє оформлення обкладинки Є. В. Нікітюка
Редактор С. М. Симоненко
Комп'ютерне верстання Є. В. Кузенка

Формат 60×84/16. Ум друк. арк. 8,14. Обл.-вид. арк. 8,43. Тираж 300 пр. Зам. №

Видавець і виготовлювач
Сумський державний університет,
вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми , 40007
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 3062 від 17.12.2007.