

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**

**Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису**

ЧЕРЕМІСІНА Валентина Федорівна

УДК: 576.54+577.29]:616.71-007.234-0.92

ДИСЕРТАЦІЯ
ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕЗОРБЦІЇ ТА
РЕМОДЕЛЮВАННЯ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ПРИ ЗАПАЛЬНИХ
ЗАХВОРЮВАННЯХ ПАРОДОНТА
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

14.03.04 – патологічна фізіологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук

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

_____ В. Ф. Черемісіна

Науковий консультант:

Березнякова Алла Іллівна,
доктор медичних наук,
заслужений професор НФаУ,
заслужений діяч науки і техніки України,
професор кафедри патологічної фізіології
Національного фармацевтичного
університету МОЗ України

Харків – 2020

АНОТАЦІЯ

Черемісіна В. Ф. Патогенетичні особливості резорбції та ремоделювання сполучної тканини при запальних захворюваннях пародонта (експериментальне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 «Патологічна фізіологія» – Національний фармацевтичний університет МОР України, Харків, 2020.

На сьогодні запальні захворювання тканин пародонта являють собою одну із найбільш складних проблем сучасної патофізіології та стоматології. Значна розповсюдженість, великий відсоток втрати зубів у пацієнтів, шкідливий вплив осередків пародонтальної інфекції на організм – все це визначає як медичну, так і соціальну значимість цієї проблеми. За даними ВООЗ більше 82 % населення страждають на запальні захворювання тканин пародонта. Разом з тим, питання, що стосуються механізмів руйнування (резорбції) та відновлення (ремоделювання) сполучної тканини пародонта при запальних захворюваннях, в доступній нам літературі, не обговорювалися. Однак, інтерес до проблеми сполучної тканини (СТ) в теперішній час суттєво підвищується, про що свідчить ріст публікацій, в яких тим чи іншим чином обговорюється її стан, роль в розвитку та протіканні багатьох захворювань. Об'єктом підвищеної уваги дослідників стає аналіз взаємодії фізіологічних систем за умов патології. Так, вивчається проблема загальних патогенетичних механізмів серцево-судинних захворювань та порушень в кістковій тканині; з'явилися дослідження по вивченню особливостей коморбідного протікання атеросклерозу та інволюційного остеопорозу. Відомо обтяження прогнозу ішемічної хвороби серця завдяки гіперкоагуляційним зсувам. Виявлений взаємозв'язок змін кальцієвого гомеостазу, функціональної активності тромбоцитів та ліпідного обміну з обумовленими віком процесами втрати кісткової маси у літніх пацієнтів, – порушення кисневого режиму пародонта при тривалій іммобілізації. Не

викликає сумнів визначна роль СТ у формуванні резистентності організму до дії патогенних агентів. Вона бере участь у бар'єрних функціях організму, її елементи здійснюють фагоцитоз, володіють антитоксичною функцією, беруть участь в специфічних імунних реакціях, запаленні і загоєнні ран тощо. Відповідно, СТ відіграє велику роль в патогенезі хвороб. Тому, метою нашого дослідження стало з'ясування загальних закономірностей та особливостей механізмів резорбції та ремоделювання сполучної тканини у щурів при запальних захворюваннях пародонта.

Об'єктом дослідження була сполучна тканина пародонта та альвеолярний відросток нижньої щелепи щурів, а предметом – патогенетичні особливості механізмів резорбції та ремоделювання сполучної тканини пародонта при пародонтиті, гінгівіті та альвеоліті.

Для досягнення поставленої мети і виконання необхідних для цього завдань застосовувалися патофізіологічні, гістологічні, морфологічні, біохімічні, імуноферментні, гематологічні (агрегатометрія), імуногістохімічні та статистичні методи дослідження.

Експерименти були виконані на 250 білих нелінійних щурах (240 самцях та 10 самицях) масою від 240,0 до 360,0 г та 10 кролях породи Шиншила масою 2,5–3,0 кг, вирощених у розпліднику віварію ЦНДЛ НФаУ.

На першому етапі ми вивчали реакцію СТ в різних органах, в тому числі, в слизовій оболонці альвеолярного відростка на гостре локальне (скипидарне) запалення шкіри спини щурів. Ми намагалися з'ясувати, що обмежений запальний процес СТ шкіри має не тільки локальний, але й генералізований характер, тим більше, що в останні роки теорія запалення зазнала значних змін. Традиційні уявлення про місцевий характер цього типового патологічного процесу доповнені теорією системного запалення. Але вона поділяється далеко не всіма авторами та недостатньо експериментально обґрунтована, що і склало суть цього дослідження. Аналіз результатів проведеного дослідження показав, що фазові зміни СТ щурів у відповідь на місцеве запалення мають як локальний, так і генералізований

характер і слизова оболонка альвеолярного відростку нижньої щелепи щурів також активно бере участь у запальному процесі, як і СТ інших органів. На другому етапі нашого дослідження було проведено вивчення функціональної активності тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному моделюванні порушень СТ при захворюваннях пародонта. Встановлено, що концентрація індуктора агрегації 10 мкмоль/л є основним молекулярним посередником зриву природного перебігу репаративної регенерації. Крім того, встановлена наявність взаємозв'язку між ступенем агрегації тромбоцитів та рівнем ІЛ-6 при концентрації АДФ 10,0 мкмоль/л. На наступному етапі вивчали особливості регуляції цитокінами процесів резорбції та ремоделювання тканини пародонта при пародонтиті, гінгівіті та альвеоліті.

Нами встановлено, що у щурів із пародонтитом є значні відмінності цитокінового профілю від щурів контрольної групи (адипонектин – $0,66 \pm 0,01$ мкг/мл в контролі, при пародонтиті – $0,66 \pm 0,02$ мкг/мл; вісфатин в контролі $141,61 \pm 8,70$ мкг/мл, при пародонтиті – $134,08 \pm 8,77$ мкг/мл). Вміст ІЛ-17 в контролі $28,17 \pm 0,53$ пг/мл, при пародонтиті $33,08 \pm 0,10$ пг/мл. Рівні ІЛ-1 Ra та ІЛ-17 в групі тварин з пародонтитом були вищі, ніж в контрольній групі щурів ($p < 0,05$), а рівень TGF β 1 був нижчим, чим в контролі. Вперше виявлена позитивна кореляція між адипонектином та ІЛ-17, між рівнями ІЛ-1 Ra та ІЛ-17, а також негативна кореляція між рівнями вісфатину та ІЛ-17, між ІЛ-1 Ra та вісфатину, між TGF β 1 та вісфатину, ІЛ-17 та адипонектину.

Ендокринній системі належить провідна роль в регуляції метаболічних процесів і в підтримці загального гомеостазу організму, що значною мірою визначають його резистентність як в нормі, так і при дії патологічних факторів. Поряд з цим у багатьох гормонів виявлена здатність впливати на швидкість проліферації, ангіогенез, апоптоз та активність імунокомпетентних клітин.

За рівнем ПТГ експериментальні групи можна розмістити наступним чином: найменшу концентрацію ПТГ ми спостерігали у групі щурів з

альвеолітом, більш високу – у щурів з пародонтитом та найвищу – у щурів з гінгівітом. За підвищенням рівня кальцитоніну порядок значень був зворотній. Найвищий рівень ПТГ у щурів з гінгівітом, можливо, свідчить про посилення резорбції в кістковій тканині пародонта, активації остеокластів та резорбції. Найнижчий рівень ПТГ ми спостерігали у щурів з альвеолітом. Це також підтверджує порушення метаболізму кісткової тканини і в цьому випадку можна говорити про напруження адаптаційних механізмів організму та вичерпуванні резервів адаптації. Підвищений рівень кальцитоніну в цій групі, можливо, характеризує особливий характер порушень в лунці після екстракції зуба. Найнижчий рівень кальцитоніну в групі щурів з гінгівітом може бути показником того, що процес ініціюється іншими механізмами, відмінними від таких в групах з більш високим рівнем гормона. Очевидно, можна говорити про вперше виявлені закономірності підвищення рівня ПТГ в ряді використаних експериментальних моделей та про створення патогенетичних механізмів порушення обміну СТ пародонта. Концентрація естрадіолу в крові самиць-щурів не впливає на процеси руйнування та відновлення тканин пародонта. Аналогічна, але зворотня зі знаком, кореляція була виявлена при дослідженні рівня кальцитоніну при альвеоліті, пародонтиті та гінгівіті. Таким чином, визначення рівнів гормонів в крові щурів із запальними захворюваннями пародонта свідчать про значення гормонального фактору в патогенетичних механізмах розвитку порушень метаболізму СТ пародонта та своєчасну корекцію виявлених відхилень.

Оскільки кальцитонін зменшує вміст кальцію і фосфору в крові, стимулює їх поступання в кістки, інгібує активність остеокластів і зменшує кількість остеобластів, котрі пригнічують кісткову резорбцію, підвищує екскрецію з сечею фосфора, калія, магнія і води і стимулює перетворення неактивної форми вітаміну D₃ в нирках в активну, пригнічує розпад колагену та вихід мінеральних компонентів із матриксу кістки, ми продовжили в наступній серії експериментів вивчати вплив кальцієво-фосфорного обміну на процеси руйнування та відновлення СТ пародонта. Аналіз порушень

біохімічних маркерів кісткового метаболізму показав, що після клінічного прояву альвеоліту та мікробної контамінації лунок зубів, які видалили, виявлені зсуви показників кальцій-фосфорного обміну у щурів. Було зареєстровано недостовірне зниження вмісту Са в крові ($1,85 \pm 0,08$ ммоль/л, при нормі $2,09 \pm 0,05$ ммоль/л). Індивідуальний аналіз кожного щура (коливання $1,65 - 2,52$ ммоль/л) показав, що у більшості щурів (17 – 73,6 %) рівень Са в крові знижувався, у 3 щурів (26,4 %) його вміст залишався в межах норми. При цьому у щурів з гіпокальціемією на початку експеримента спостерігали ознаки перифокального запалення (гіперемія, локальний набряк ясен), що потребує застосування протизапальної терапії. Враховуючи наявність в організмі щурів великого депо кальцію у вигляді кристалів гідроксиапатиту, в кістках або відбувається вивільнення кальція із депо, або, навпаки, його зв'язування. Цей процес відіграє важливу роль в регуляції концентрації іонів кальцію в крові.

Окрім гормонів, в багатьох біохімічних процесах в організмі бере участь велика кількість мікроелементів, в тому числі мідь та цинк. Тому нами була вивчена роль цих мікроелементів в процесах росту та дозрівання клітин сполучної тканини. Встановлено, що в крові щурів з гінгівітом вміст міді збільшувався в 1,4 рази відносно контролю та складав $22,48 \pm 0,59$ мкмоль/л при нормі $18,7 \pm 0,56$ мкмоль/л ($p < 0,05$). Вміст цинку в плазмі крові був знижений у щурів обох груп, причому найбільш виражено (в 1,4 рази) у щурів з пародонтитом. Результати проведених нами експериментів вказують на виражені порушення обміну мікроелементів – міді та цинку при запальних захворюваннях пародонта. Можна припустити, що порушення обміну міді у тварин з пародонтитом і гінгівітом є патогенетичним і, можливо, у деякій мірі відображає розвиток склеротичних змін у пародонті.

В цілому, гіпокупремія та гіпоцинкемія, практично, не обтяжує процеси резорбції сполучної тканини у щурів з пародонтитом, у щурів з гінгівітом може гальмувати проліферацію клітин сполучної тканини та прискорювати процес дозрівання протеогліканів, іони міді є необхідним

матеріалом, як в процесі резорбції, так і в процесі ремоделювання при хворобах пародонта. Ці результати одержані нами вперше.

Одним із показників, який використовується для вивчення процесів обміну СТ, є рівень оксипроліну (одна із амінокислот колагену) в сироватці крові, який відображає як раз інтенсивність процесу колагенутворення. Оскільки в крові оксипролін може знаходитися у вільному, пептидно- і білокзв'язаному вигляді. Рівень вільного оксипроліну (ВОП) в сироватці крові відображає процеси деградації колагену, рівень білокзв'язуючого оксипроліну (БЗОП) – процеси біосинтезу білка. Літературні дані про вміст пептидозв'язаного оксипроліну (ПЗОП) не мають однозначної інтерпретації. Вважається, що вміст ПЗОП відображає одночасно ступінь розпаду та синтезу колагену. Наступний етап експерименту ми проводили в два етапи. Перший етап – визначення ВОП, БЗОП та ПЗОП в сечі та в крові щурів з пародонтитом, гінгівітом і альвеолітом. Другий етап – визначення ролі та механізмів дії ключового регуляторного шляху – системи RANK/RANKL/OPG в патогенезі резорбції та ремоделювання СТ пародонта. Нами вперше встановлено, що інформативним методом для ранньої діагностики резорбції і ремоделювання СТ при запальних захворюваннях пародонта є визначення вмісту оксипроліну в добовій сечі щурів. Динаміка оксипроліну в сечі при патології пародонта свідчить про те, що поряд з резорбцією паралельно йдуть процеси ремоделювання СТ пародонта.

Система RANK/RANKL/OPG – ключовий регулятор гомеостазу кісткової тканини. Нами проведено дослідження по вивченню значення міжклітинних медіаторів (на прикладі остеопротегерину, RANKL та IL-17) в механізмах порушення ремоделювання кісткової тканини в експерименті на моделі пародонтиту. При проведенні кореляційного аналізу було виявлено, що RANKL та OPG слабо корелюють один з одним в контрольній та експериментальній групах, що може свідчити про те, що в регуляції синтезу цитокінів задіяна велика кількість процесів, вплив яких не завжди відображають їх сироваткові рівні. В той же час в групі щурів з

пародонтитом RANKL та OPG достовірно корелюють з прозапальним IL-17. Це свідчить про те, що в експериментальній групі IL-17 індукує експресію RANKL та інгібує продукцію остеопротегерину – ключових регуляторів остеокластогенезу, що призводить до втрати кісткової маси в цій групі тварин. Тобто, прозапальний цитокін є прямим стимулятором RANKL і є одним із можливих патогенетичних механізмів.

У групі кролів з пародонтитом нами вивчений стан вільно-радикальних процесів. Для підтвердження даних результатів ми провели експерименти по вивченню енергетичного метаболізму мітохондрій, досліджували реакцію еритроцитів шурів при гінгівіті та визначали рівень циркулюючих імунних комплексів. В результаті аналізу одержаних даних ми прийшли висновку, що виявлений широкий спектр кисневозалежних механізмів при запальних захворюваннях пародонту: активація перекисного окиснення ліпідів, зниження антиоксидантного захисту, підвищення вмісту ТБК-реактивних речовин, зниження активності каталази та підвищення концентрації церулоплазміну; підвищення концентрації циркулюючих імунних комплексів, переважно за рахунок найбільш патогенних середньомолекулярних (11 S – 19 S) і дрібномолекулярних (<11 S) фракцій; зниження загальної кількості об'єму еритроцитів, зниження концентрації гемоглобіну та зменшення енергетичного метаболізму аденозидної системи мітохондрій, що проявляється у вигляді зниження концентрації аденозиндифосфату на фоні підвищення АДФ та АМФ. Найбільш виражені зміни – при пародонтиті, найменш – при альвеоліті.

При дослідженні стану ПОЛ та АОС у сироватці крові спостерігали активацію ПОЛ і зниження антиоксидантного захисту. Про це свідчить збільшення церулоплазміну в 1,9 рази та МДА в 1,6 рази порівняно з інтактним контролем. Відмічали також зниження показника АПІ в 3,4 рази, що також підтверджувало наявність запальних явищ при пародонтиті. Церулоплазмін, мг% в контролі – $27,5 \pm 0,9$, при пародонтиті – $52,6 \pm 0,9$; ТБК-реактанти, мкмоль/г в контролі – $1,30 \pm 0,08$, при пародонтиті – $2,1 \pm 0,07$;

каталаза, мккат/г в в контролі – $0,55 \pm 0,06$, при пародонтиті – $0,36 \pm 0,08$. АПІ, ум.од. в контролі – $0,42 \pm 0,07$, при пародонтиті – $0,17 \pm 0,03$. Паралельно з кров'ю стан ПОЛ та АОС ми досліджували в гомогенаті альвеолярного відростку нижньої щелепи пародонта та отримали однонаправлені результати.

Таким чином, зсуви, що відбуваються в системі ТБК-реактивів, каталази і церулоплазмину підтверджували порушення про- та антиоксидантного балансу в тканинах пародонта та виявили кисневозалежний характер захворювань. На окремо взятій групі щурів нами був проведений експеримент по визначенню кислотно-основного стану слини порожнини рота щурів, оскільки за даними наукової літератури рН слини є індикатором захворювання тканин пародонта. Встановлено, що зсув рН навіть на 0,1 в кислий бік є сигналом значних порушень енергетичного обміну та зв'язаною з ним системи підтримки гомеостазу ротової порожнини, а зниження рН до 6,6 супроводжується інгібуванням активності процесів перекисного окиснення ліпідів.

На останньому етапі роботи ми провели макро- та мікроскопічне вивчення експериментального матеріалу, отриманого у щурів з пародонтитом, гінгівітом та альвеолітом. Встановлено, що одночасна присутність як в м'яких так і в твердих тканинах пародонту, остеобластів, остеобластів, фібробластів та інших клітин сполучної тканини, що відповідають за резорбцію та ремоделювання неорганічного та органічного кісткового матриксу, є доказом того, що в тканинах пародонта постійно відбуваються процеси резорбції та ремоделювання.

Ключові слова: сполучна тканина, резорбція, ремоделювання, пародонтит, гінгівіт, альвеоліт.

Список публікацій здобувача

1. Черемісіна В. Ф. Зміни енергетичного метаболізму мітохондрій при захворюваннях пародонту в експерименті та їх значення в процесах резорбції та ремоделювання. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2017.

№ 1 (3). С. 42–46.

2. Черемісіна В. Ф. Особливості обміну міді та цинку в периферичній крові щурів із захворюваннями м'яких тканин пародонту. *Світ медицини та біології*. 2017. № 1 (59). С.148–151.

3. Черемисина В. Ф. Роль маркера остеопороза – оксипролина в патогенезе пародонтита и гингивита. *Вісник морської медицини*. 2017. № 1 (74). С. 41–46.

4. Черемісіна В. Ф., Березнякова А. І. Особливості функціонування тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному моделюванні пародонтиту. *Буковинський медичний вісник*. 2017. Том 21, № 4 (84). С. 160–164.

5. Berezniakova A. I., Cheremisina V. F. The level of circulatory immune complexes and their molecular content in rates with periodontal diseases. *European International Journal of Science and Technology*. 2017. Vol. 6, № 2. P. 41–45.

6. Berezniakova A. I., Cheremisina V. F. Identification of Hormonal Status in Rats' Blood with Diseases of Soft Tissues of Parodontium. *European International Journal of Science and Technology*. 2017. Vol. 6, № 4. P. 1–5.

7. Черемісіна В. Ф. Реакції еритроцитів дорослих щурів при гінгівіті за умов дихальної гіпоксії. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 1. С. 468–477.

8. Черемисина В. Ф. Роль кальцієво-фосфорного обмену в резорбції м'яких тканин пародонта у крыс. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 4. P. 903–909.

9. Черемісіна В. Ф., Березнякова А. І. Стан агрегації тромбоцитів і дія інтерлейкінів 4 та 6 при експериментальному альвеоліті. *Світ медицини та біології*. 2017. № 4 (62). С. 165–168.

10. Черемісіна В. Ф. Роль остеопротегерину в механізмах розвитку вторинного остеопорозу при моделюванні пародонтиту. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2017. № 4 (50). С. 110–114.

11. Черемісіна В. Ф., Березнякова А. І. Функціональна активність тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному моделюванні гінгівіту та альвеоліту. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2017. Т. XVI, № 4 (62). С. 97–102.
12. Berezniakova A. I., Cheremisina V. F. 4 and 6 interleukin's action in the pathogenesis of periodontitis, gingivitis and dental alveolitis. *Wiadomosci Lekarskie*. 2017. Т. LXX, № 5. P.910–913.
13. Черемісіна В. Ф. Значення остеопротегерину, RANKL, інтерлейкіну-17 в механізмах порушення кісткового метаболізму. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 7. С. 1257–1264.
14. Черемісіна В. Ф. Роль адипокінів в регуляції кісткового ремоделювання при захворюваннях м'яких тканин пародонту. *Буковинський медичний вісник*. 2017. Т. 21, № 2 (82). С. 118–121.
15. Спосіб моделювання альвеоліту у лабораторних тварин (щурів) / В. Ф. Черемісіна, М. І. Гармаш, А. І. Березнякова // пат. 129440 Україна: МПК G09B 23/28. № 201805815; заявл. 24.05.2018; опубл. 25.10.2018, Бюл. № 20. 3 с.
16. Черемісіна В. Ф. Функціональна активність тромбоцитів у щурів при експериментальному моделюванні гінгівіту. *Вісник морської медицини*. 2018. № 1 (78). С. 70–74.
17. Березнякова А. І., Черемісіна В. Ф. Кислотно-основний стан крові та змішаної слини у щурів з захворюваннями пародонту. *Фізіологічний журнал*. 2018. Т. 64, № 1. С. 66-72.
18. Черемісіна В. Ф. Імуноморфологічні та імуногістохімічні показники сполучної тканини пародонта у щурів при пародонтиті та гінгівіті. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2018. Т. 18, № 2 (62). С. 181–185.
19. Березнякова А. І., Черемісіна В. Ф., Жемела О. Д., Гученко Г. П. Сполучна тканина щурів та її реакція на гостре локальне запалення в різних органах. *Фізіологічний журнал*. 2018, Т. 64, № 2. С. 71–79.
20. Cheremisina V. F. The role of connective tissue metabolic processes in

the development of pathological processes at inflammation of different intensity in parodontium. *Journal of Education, Health and Sport*. 2018. Vol. 8, № 8. P. 1250–1254.

21. Черемісіна В. Ф. Зміни функціональної активності тромбоцитів у щурів при експериментальному порушенні стану сполучної тканини пародонта. *Запорожский медицинский журнал*. 2018. Т. 20, № 4 (109). С.553–557.

22. Березнякова А. І., Черемісіна В. Ф., Жемела О. Д., Гученко Г. П. Стан вільно-радикальних процесів та системи антиоксидантного захисту сполучної тканини пародонту у кролів при гідрокортизоновому пародонтиті. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2018. Т. 18, № 3 (63). С. 190-193.

23. Черемісіна В. Ф., Березнякова А. І. Взаємозв'язки рівнів продукції цитокінів у механізмах регуляції процесів ремоделювання кісткової тканини при пародонтиті. *Світ медицини та біології*. 2018. № 2 (64). С. 181–185.

24. Cheremisina V. F., Bereznyakova A. I. Erythrocytes and their value in pathogenesis of parodontium inflammatory diseases. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9, № 4. P. 611-617.

25. Черемісіна В. Ф. Порушення кислотно-лужного балансу при захворюваннях пародонту. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : міжнар. наук.-практ. конф. (Харків, 30-31 берез. 2017). Харків. С. 354.

26. Черемісіна В. Ф. Иммуногенетические механизмы патогенеза воспалительных заболеваний мягких тканей пародонта. *Роль молодежи в развитии медицинской науки* : научно-практ. конф. молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с междунар. участием посвященной «Году молодежи». (Душанбе, 28 апреля 2017). Душанбе. С.358.

27. Черемісіна В. Ф. Стан метаболітів сполучної тканини при захворюваннях м'яких тканин пародонта. *Інновації в медицині: досягнення молодих вчених* : 40-ва ювілейна наук.-практ. конф. молодих вчених НМАПО

імені П.Л.Шупика з міжнар. участю, присвяченої дню науки (Київ, 18 травня 2017). Київ. С. 120.

28. Черемисина В. Ф. Цитокины и их участие в ремоделировании костной ткани пародонта. *Бюллетень XVI чтений им. В. В. Подвысоцкого*. (Одеса, 18-19 травня 2017). Одеса. С. 371–372.

29. Черемісіна В. Ф. Взаємозв'язки між рівнем інтерлейкінів та функціональною активністю тромбоцитів при захворюваннях м'яких тканин пародонта. Здобутки клінічної та експериментальної медицини : LX наук.-практ. конф., присвячена 60-річчю ТДМУ. (Тернопіль, 14 червня 2017). Тернопіль. С. 374–375.

30. Черемісіна В. Ф. Гістологічне дослідження м'яких тканин пародонта при експериментальному гінгівіті. *Інновації в медицині : 87 науково-практ. конф. студентів та молодих вчених із міжнар. участю*. (Івано-Франківськ, 22-23 берез. 2018). Івано-Франківськ. С. 114.

31. Черемісіна В. Ф. Порівняльна характеристика активності процесів прооксидантної та антиоксидантної систем у крові та тканинах пародонта. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : II Міжнар. наук.-практ. конф.* (Харків, 28-29 берез. 2018). Харків. С. 312.

32. Черемисина В. Ф. Воспаление – основной патологический процесс при заболеваниях пародонта. *Система повышения квалификации педагогических кадров в ВУЗах Узбекистана: опыт, приоритеты и перспективы развития : научно-практ. конф.* (Ташкент, 18 апреля 2018). Ташкент. С. 239.

33. Черемісіна В. Ф. Пошук адекватних моделей для моделювання захворювань пародонту у людини. *XXII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених*. (Тернопіль, 23-25 квітня 2018). Тернопіль. С. 85.

34. Черемісіна В. Ф. Біохімічні зміни сполучної тканини при патологічних процесах. *Бюллетень XVI чтений им. В.В.Подвысоцкого* (Одеса,

24-25 травня 2018). Одеса. С. 160–162.

35. Черемісіна В. Ф., Березнякова А. І. Оксипролін – основний маркер обмінних процесів в сполучній тканині. *Актуальні питання морфогенезу та ремоделювання тканин і органів у нормі та патології* : наук.-практ. конф. з міжнар. участю (Тернопіль, 20-21 вересня 2018). Тернопіль. С. 160-162.

36. Черемісіна В. Ф. Деякі гематологічні показники при експериментальному гідрокортизоновому пародонтиті у кролів. *Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики* : VII Пленум Українського наукового товариства патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячених 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н.Зайка. (Полтава, 11-12 жовтня 2018). Полтава. С.123–124.

37. Черемісіна В. Ф. Вплив гормонального гомеостазу у щурів при запальних захворюваннях пародонту на процеси резорбції та ремоделювання. *Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики* : VII Пленум Українського наукового товариства патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячених 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н.Зайка. (Полтава, 11-12 жовтня 2018). Полтава. С. 122.

38. Черемісіна В. Ф. Цитокінові механізми при запальних захворюваннях пародонту, які змінюють ремоделювання сполучної тканини. *Бюлетень XVI читань ім. В. В. Підвисоцького*. (Одеса, 21-22 травня 2019). Одеса. С. 186-187.

39. Черемісіна В.Ф. Запальний процес в пародонтиті: місцевий або генералізований процес організму? *Науково-практична конференція з міжнародною участю Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми»*. (Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019). Івано-Франківськ. С. 67-68.

40. Черемісіна В.Ф., Березнякова А.І. Кисневозалежні механізми в патогенезі запальних захворювань пародонту. *Науково-практична*

конференція з міжнародною участю «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку», присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України. (Харків, 20 вересня 2019). Харків. С. 219-221.

ABSTRACT

Cheremisina V.F. Pathogenetic features of resorption and remodeling of connective tissue at inflammatory periodontal diseases (experimental studing). - Qualifying scientific work on the rights for a manuscript.

Thesis for the scientific degree of the Doctor of medical sciences in specialty 14.03.04 "Pathological physiology". – National University of Pharmacy, Kharkiv,, 2020.

Today, inflammatory diseases of periodontal tissues are one of the most complex problems of modern pathophysiology and dentistry. Significant prevalence, high percentage of dental loss in patients, harmful effects of cells of periodontal infection on the body - all this determines both the medical and social significance of this problem. According to WHO, more than 82% of the population suffer from inflammatory diseases of periodontal tissues. However, issues relating to mechanisms of destruction (resorption) and restoration (remodeling) of connective tissue periodontal in inflammatory diseases, in the literature available to us, were not discussed. However, nowadays the interest to the connective tissue (CT) problem is substantially increased, as evidenced by the increasing of publications, in which one way or another discusses its state, role in the development and occurrence of many diseases. The object of the attention of researchers is an analysis of the interaction of physiological systems in the conditions of pathology. Thus, the problem of general pathogenetic mechanisms of cardiovascular diseases and disorders in bone tissue is studied; there were studies to study the features of the comorbidity of atherosclerosis and involutional osteoporosis. Weakness of the prediction of coronary heart disease due to hypercoagulation displacement is known. The correlation of changes of calcium

homeostasis, functional activity of platelets and lipid metabolism with age-related processes of loss of bone mass in elderly patients was revealed - disorder of the oxygen periododontal regime during prolonged immobilization. There is no doubt that the role of CT in the formation of resistance of the organism to the action of pathogens. It participates in the barrier functions of the body, its elements carry out phagocytosis, have antitoxic function, participate in specific immune reactions, inflammation and healing of wounds etc. Accordingly, CT plays an important role in the pathogenesis of diseases. Therefore, the aim of our work was to find out the general patterns and features of mechanisms of resorption and remodeling of connective tissue in rats with inflammatory periodontal disease.

The object of the study was the connective tissue of the periodontal disease and the alveolar appendix of the mandible of the rats, and the subject - the pathogenetic features of the mechanisms of resorption and remodeling of the periodontal connective tissue during periodontitis, gingivitis and alveolitis.

For the achievement of the stated aim and the fulfillment of the necessary tasks for this aim were used methods: pathophysiological, histologic, morphological, biochemical, immuno-enzymatic, hematological (aggregatometry), immunohistochemical and statistical.

Experiments were performed on 250 non-linear white male rats weighing 240.0 - 360.0 g (10 female rats from them), 10 rabbits of the Chinchilla breed, weighing 2.5 - 3.0 kg., grown in the vivarium nursery of NFaU Central Research Laboratory.

At the first stage, we studied the reaction of CT in various organs, including, in the mucous membrane of the alveolar process on acute local (turpentine) inflammation of the rat's back skin. We tried to find out that the limited inflammatory process of CT skin has not only local but also generalized nature, especially since in recent years the theory of inflammation has undergone significant changes. Traditional ideas about the local origin of this typical pathological process are supplemented by the theory of systemic inflammation. But it is far from all authors and is not sufficiently substantiated experimentally,

which formed the essence of this study. The analysis of the results of the study showed that the phase changes of the CT of rats in response to local inflammation are both local and generalized, and the mucous membrane of the alveolar branch of the mandible of the rats is also actively involved in the inflammatory process, as well as the CT of other organs. On the second stage of our work, we studied the functional activity of the platelet linkage hemostasis in the experimental modeling of CT disorder in periodontal diseases. It was established that the concentration of the aggregator inducer of 10 $\mu\text{mol/l}$ is the main molecular mediator of the disruption of the natural course of reparative regeneration. In addition, the relationship between the degree of platelet aggregation and IL-6 decomposition at an ADP concentration of 10.0 $\mu\text{mol} / \text{L}$ has been established. At the next stage, the peculiarities of cytokine regulation of resorption and remodeling of periodontal tissue during periodontitis, gingivitis and alveolitis were studied.

We found that in rats with periodontitis there are significant differences in the cytokine profile from the rats of the control group (adiponectin - $0.66 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$ in the control, at periodontitis - $0.66 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$; vsfatin in the control $141.61 \pm 8.70 \mu\text{g/ml}$, with parodontitis $134.08 \pm 8.77 \mu\text{g/ml}$). The content of IL-17 in the control was $28.17 \pm 0.53 \text{ pg/ml}$, with periodontitis $33.08 \pm 0.10 \text{ pg/ml}$. IL-1 Ra and IL-17 levels in the periodontal disease group were higher than in the control group of rats ($p < 0.05$), and TGF β 1 levels were lower than in controls. For the first time, there was a positive correlation between adiponectin and IL-17, between levels of IL-1 Ra and IL-17, as well as a negative correlation between the levels of vsfatin and IL-17, between IL-1 Ra and vsfatin, between TGF β 1 and vsfatin, IL-17 and adiponectin.

The endocrine system has a leading role in the regulation of metabolic processes and in maintaining the overall homeostasis of the organism, which largely determine its resistance both in normal and under the impact of pathological factors. Along with this, many hormones have the ability to impact the rate of proliferation, angiogenesis, apoptosis and the activity of immune-competent cells.

By the level of PTH experimental groups can be placed as follows: the lowest concentration of PTH we observed in the group of rats with alveolitis, higher - in rats with periodontitis and the highest - in rats with gingivitis. As the level of calcitonin was increased, the order of values was reversed. The highest PTH levels in rats with gingivitis may be evidence of increased resorption in periodontal bone tissue, osteoclast activation and resorption. We observed the lowest level of PTH in alveolitis rats. It also confirms the disruption of bone metabolism, and in this case we can talk about the strain of the adaptive mechanisms of the body and the exhaustion of the reserves of adaptation. Increased levels of calcitonin in this group may characterize the particular nature of abnormalities in the well after tooth extraction. The lowest level of calcitonin in the group of rats with gingivitis may indicate that the process is triggered by other mechanisms other than those in groups with higher hormone levels. Obviously, it is possible to talk about the first revealed patterns of increasing the level of PTH in a number of experimental models used and about the creation of pathogenetic mechanisms of disorder of the exchange of ST periodontal disease. Concentration of estradiol in the blood of female rats does not affect the processes of destruction and restoration of periodontal tissues. A similar, but inverse sign, correlation was found in the study of calcitonin levels in alveolitis, periodontitis and gingivitis. Thus, the determination of the levels of hormones in the blood of rats with inflammatory diseases of the periodontal disease indicates the importance of the hormonal factor in the pathogenetic mechanisms of development of metabolic disorders of the periodontal disease and timely correction of the detected deviations.

As calcitonin decreases the content of calcium and phosphorus in the blood, stimulates their entry into the bones, inhibits the activity of osteoclasts and reduces the number of osteoblasts that inhibit bone resorption, increases the excretion of urine by phosphorus, potassium, magnesium and water forms by conversion active, suppressing the collapse of collagen and the exit of mineral components from the bone matrix, we continued in the next series of experiments to study the effect of

calcium-phosphorus metabolism on the processes of destruction and recovery of CT rocks ont. Analysis of disorders of biochemical markers of bone metabolism showed that after clinical manifestation of alveolitis and microbial contamination of the removed teeth, shifts of calcium-phosphorus metabolism in rats were detected. There was an unreliable decrease in Ca content in the blood (1.85 ± 0.08 mmol / l, at a rate of 2.09 ± 0.05 mmol / l). An individual analysis of each rat (1.65 - 2.52 mmol / l fluctuations) showed that in most rats (17 - 73.6%) the level of Ca in blood decreased, in 3 rats (26.4%) its content remained in within normal limits. However, rats with hypocalcemia at the beginning of the experiment observed signs of perifocal inflammation (hyperemia, local gum swelling), which requires the use of anti-inflammatory therapy. Given the presence in the body of rats large depot calcium in the form of crystals of hydroxyapatite, in the bone is either release of calcium from the depot, or, conversely, its binding. This process plays an important role in regulating the concentration of calcium ions in the blood.

In addition to hormones, many biochemical processes in the body involved amount number of trace elements, including copper and zinc. Therefore, we studied the role of these trace elements in the growth and maturation processes of connective tissue cells. It was established that in the blood of rats with gingivitis, the copper content increased 1.4 times in relation to control and amounted to 22.48 ± 0.59 $\mu\text{mol/l}$ at a rate of 18.7 ± 0.56 $\mu\text{mol/l}$ ($p < 0.05$). The content of zinc in blood plasma was reduced in both groups of rats, with the most pronounced (1.4 times) in rats with periodontitis. The results of our experiments indicate a marked disorder of the metabolism of trace elements - copper and zinc in inflammatory diseases of the periodontal disease. It can be assumed that the disorder of their metabolism has pathogenetic significance in the development of resorption and remodeling of periodontal CT.

In general, hypocopperemia and hypozincemia practically do not aggravate the processes of connective tissue resorption in rats with periodontitis, in rats with gingivitis, they can inhibit the proliferation of connective tissue cells and accelerate the process of maturation of proteoglycans, copper ions are a necessary

material, both in the process of resorption and in the process of remodeling with periodontal diseases. These results were obtained at the first time.

One of the indicators used to study the processes of CT metabolism is the level of oxyproline (one of the amino acids of the collagen) in the serum, which reflects just the intensity of the process of collagen formation. Because oxyproline may be in the blood in free, peptide- and protein-bound form. The level of free oxyproline (GP) in serum reflects the processes of collagen degradation, and the level of protein binding oxyproline (BOP) indicates the processes of protein biosynthesis. Literature data on the content of peptidally bound oxyproline (POPD) are not clearly interpreted. It is believed that the content of PZOP reflects the degree of collapse and collagen synthesis. The next stage of the experiment was conducted in two stages. The first stage is the determination of free, protein-bound and peptidoblast oxyproline in urine and blood in rats with periodontitis, gingivitis and alveolitis. The second stage - the definition of the role and mechanisms of the key regulatory pathway - RANK/RANKL/OPG system in the pathogenesis of resorption and remodeling of periodontal CT. We firstly found that the informative method for early diagnosis of resorption and remodeling of CT in inflammatory periodontal disease is to determine the content of oxyproline in the daily urine of rats. The dynamics of oxyproline in urine during periodontal pathology suggests that, along with resorption, the processes of remodeling of periodontal CT are in parallel.

The RANK/RANKL/OPG system is the key regulator of bone tissue homeostasis. We conducted a study on the importance of intercellular mediators (for example, osteoprotegerin, RANKL and IL-17) in the mechanisms of bone remodeling impairment in an experiment on periodontitis. In the correlation analysis, it was found that RANKL and OPG are weakly correlated with each other in the control and experimental groups, which may indicate that a number of processes are involved in the regulation of cytokine synthesis, the effect of which does not always reflect their serum levels. At the same time, in the group of rats with periodontitis RANKL and OPG reliably correlate with proinflammatory IL-

17. This suggests that in the experimental group, IL-17 induces RANKL expression and inhibits the production of osteoprotegerin, a key regulator of osteoclastogenesis, which results in loss of bone mass in this group of animals. That is, the proinflammatory cytokine is a direct stimulant of RANKL and is one of the possible pathogenetic mechanisms.

In the group of rabbits with periodontitis we studied the state of free radical processes. To confirm the data, we conducted experiments to study the energy metabolism of mitochondria, investigated the response of erythrocytes of rats at gingivitis under conditions and determined the level of circulating immune complexes. As a result of the analysis of the data obtained, we came to the conclusion that under conditions of normobaric hypoxia, oxidative stress and increased generation of exercise therapy develop, and the general level of CIC increases, mainly due to the increase of the most toxic minor (<11 S) and median-molecular (11 S – 19 S) immune complexes and adenine system of mitochondria that are energy-dependent in periodontal diseases. We came to the conclusion that the pathogenesis of periodontal disease plays an important role in oxygen-dependent mechanisms.

In the study of the status of LPO and AOS in serum, the activation of LPO and antioxidant defense were observed. This is evidenced by the increase of ceruloplasmin in 1,9 times and MDA in 1,6 times compared with intact control. There was also a decrease in the API rate by 3.4 times, which also confirmed the presence of inflammatory events during periodontitis. Ceruloplasmin, mg% in the control - $27,5 \pm 0,9$, with periodontitis - $52,6 \pm 0,9$; TBC-reactants, $\mu\text{mol} / \text{g}$ in the control - 1.30 ± 0.08 , with periodontitis - 2.1 ± 0.07 ; catalase, mccat / g in control - $0,55 \pm 0,06$, with periodontitis - $0,36 \pm 0,08$. AIP, UMD in the control - $0,42 \pm 0,07$, in the periodontitis - $0,17 \pm 0,03$. In parallel with blood, the state of LPO and AOS was investigated in the homogenate of the alveolar process of the periodontal mandibular jaw and received unidirectional results.

Thus, the biases occurring in the TBC-reactants, catalase and ceruloplasmin systems confirmed the violation of pro- and antioxidant balance in periodontal

tissues and revealed the oxygen-dependent nature of the disease. In a separate group of rats, we conducted an experiment to determine the acid-base state of salivation in the oral cavity of rats, since according to the scientific literature, pH of saliva is an indicator of the disease of periodontal tissues. It was found that a pH shift of even 0.1 in the sour side is a signal of significant violations of energy metabolism and associated with the homeostasis of the oral cavity, and a decrease in pH to 6.6 is accompanied by inhibition of the activity of lipid peroxidation processes.

In the last stage of the study we conducted a macro- and microscopic study of experimental material obtained in rats with periodontitis, gingivitis and alveolitis. The simultaneous presence in both soft and hard tissues of the periodontium, osteoblasts, osteoblasts, fibroblasts and other connective tissue cells responsible for the resorption and remodeling of the inorganic and organic bone matrix is evidence that the periodontal processes persist in the tissues of the periodontium and remodeling.

Key words: connective tissue, resorption, remodeling, periodontitis, gingivitis, alveolitis.

Publications list of the applicant

1. Cheremisina V. F. Changes in the energy metabolism of mitochondria in periodontal diseases in the experiment and their significance in the processes of resorption and remodeling. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports*. 2017. № 1 (3). P. 42–46.

2. Cheremisina V. F. Features of exchange of copper and zinc in peripheral blood of rats with diseases of soft tissues of periodontal disease. *World of Medicine and Biology*. 2017. № 1 (59). P. 148–151.

3. Cheremisina V. F. The role of a marker of osteoporosis - oxyproline in the pathogenesis of periodontitis and gingivitis. *Herald of Marine Medicine*. 2017. № 1 (74). P. 41–46.

4. Cheremisina V. F., Bereznyakova A. I. Features of the functioning of the platelet link of hemostasis in the experimental modeling of periodontitis. *Bukovinsky Medical Bulletin*. 2017. Vol. 21, № 4 (84). P. 160–164.

5. Berezniakova A. I., Cheremisina V. F. The level of circulatory immune complexes and their molecular content in rates with periodontal diseases. *European International Journal of Science and Technology*. 2017. Vol. 6, № 2. P. 41–45.

6. Berezniakova A. I., Cheremisina V. F. Identification of Hormonal Status in Rats' Blood with Diseases of Soft Tissues of Parodontium. *European International Journal of Science and Technology*. 2017. Vol. 6, № 4. P. 1–5.

7. Cheremisina V. F. Reactions of erythrocytes of adult rats with gingivitis under conditions of respiratory hypoxia. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 1. P. 468–477.

8. Cheremisina V. F. The role of calcium-phosphorus exchange in resorption of soft tissue periodontal in rats. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 4. P. 903–909.

9. Cheremisina V. F., Bereznyakova A. I. The state of aggregation of platelets and the action of interleukins 4 and 6 with experimental alveolitis. *World of Medicine and Biology*. 2017. № 4 (62). P. 165–168.

10. Cheremisina V. F. The role of osteoprotegerin in the mechanisms of development of secondary osteoporosis in the simulation of periodontitis. *Actual problems of transport medicine*. 2017. № 4 (50). P. 110–114.

11. Cheremisina V. F., Bereznyakova A. I. Functional activity of the platelet link of hemostasis in the experimental modeling of gingivitis and alveolitis. *Clinical and Experimental Pathology*. 2017. Vol. XVI, № 4 (62). P. 97–102.

11. Berezniakova A. I., Cheremisina V. F. 4 and 6 interleukin's aktion in the pathogenesis of periodontitis, gingivitis and dental alveolitis. *Wiadomosci Lekarskie*. 2017. Vol. LXX, № 5. P.910–913.

13. Cheremisina V. F. The value of osteoprotegerin, RANKL, interleukin-17 in mechanisms of bone metabolism disturbance. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 7. P. 1257–1264.
14. Cheremisina V. F. The role of adipokines in the regulation of bone remodeling in diseases of soft tissue periodontal disease. *Bukovinsky Medical Bulletin*. 2017. Vol. 21, № 2 (82). P. 118–121.
15. Method of modeling alveolitis in laboratory animals (rats) / V. F. Cheremisina, M. I. Garmash, A. I. Bereznyakova // Pat. 129440 Ukraine: IPC G09B 23/28. No. 201805815; stated. 05/22/2018; has published 10/25/2018, Bul. № 20. 3 p.
16. Cheremisina V. F. Functional activity of platelets in rats in experimental modeling of gingivitis. *Herald of Marine Medicine*. 2018. № 1 (78). P. 70–74.
17. Bereznyakova A. I., Cheremisina V. F. Acid-basic state of blood and mixed saliva in rats with periodontal diseases. *Physiological journal*. 2018. Vol. 64, № 1. P. 66–72.
18. Cheremisina V. F. Immunomorphological and immunohistochemical indices of periodontal connective tissue in rats at periodontitis and gingivitis. *Actual problems of modern medicine*. 2018. Vol. 18, № 2. P. 181–185.
19. Bereznyakova A. I., Cheremisina V. F., Zhemela O. D., Guchenko G. P. Connective tissue of rats and its reaction to acute local inflammation in different organs. *Physiological journal*. 2018, Vol. 64, № 2. P. 71–79.
20. Cheremisina V. F. The role of metabolic processes in the development of pathological processes at inflammation of different intensity in parodontium. *Journal of Education, Health and Sport*. 2018 Vol. 8, № 8. P. 1250–1254.
21. Cheremisina V. F. Changes in the functional activity of platelets in rats with an experimental disorder of the state of connective tissue periodontal disease. *Zaporozhye Medical Journal*. 2018. Vol. 20, № 4 (109). P. 533–557.
22. Bereznyakova A. I., Cheremisina V. F., Zhemela O. D., Guchenko G. P. The state of free radical processes and the system of antioxidant defense of the periodontal connective tissue in rabbits at hydrocortisone periodontitis. *Actual*

problems of modern medicine: Bulletin of the Ukrainian Medical Stomatological Academy. 2018. S.

23. Cheremisina V. F., Bereznyakova A. I. Interconnections of levels of cytokine production in mechanisms of regulation of bone tissue remodeling processes during periodontitis. *World of Medicine and Biology.* 2018. № 2 (64). P. 181–185.

24. Cheremisina V. F., Bereznyakova A. I. Erythrocytes and their value in pathogenesis of parodontium inflammatory diseases. *Journal of Education, Health and Sport.* 2019. Vol. 9, № 4. P. 611-617.

25. Cheremisina VF Disorders of acid-base balance in diseases of periodontal disease. *Medications - to human. Modern problems of pharmacotherapy and prescription of medicines: Intern. science-practice conf.* (Kharkiv, March 30-31, 2017). Kharkiv P. 354.

26. Cheremisina V. F. Immunogenetic mechanisms of pathogenesis of inflammatory diseases of soft tissues of parodontium. *The role of youth in the development of medical science: the scientific-practice. conf. young scientists and students of TGMU them. Abuai ibni Sino with the interns. participation in the dedicated "Youth Year".* (Dushanbe, April 28, 2017). Dushanbe P. 358.

27. Cheremisina V. F. State of metabolites of connective tissue in diseases of soft tissues of parodontium. *Innovations in medicine: achievement of young scientists: 40 anniversary science.-Practice. conf. Young scientists of the NMAPO named P. L. Shupik from the intern. partic. devoted to the day of science* (Kyiv, May 18, 2017). Kiev. P. 120.

28. Cheremisina V. F. Cytokines and their participation in remodeling of periodontal bone tissue. *Bulletin XVI read them. V. V. Podvysotsky.* (Odessa, May 18-19, 2017). Odessa P. 371-372.

29. Cheremisina V. F. Interconnections between the level of interleukins and the functional activity of platelets in diseases of soft tissues of periodontal disease. *Achievements of clinical and experimental medicine: LX Sciences-Practice.*

conference devoted to the 60th anniversary of the TDMU. (Ternopil, June 14, 2017). Ternopil P. 374–375.

30. Cheremisina V. F. Histological study of soft tissue periodontal during experimental gingivitis. *Innovation in medicine: 87 scientific-practice. conf. students and young scientists from international participation.* (Ivano-Frankivsk, 22-23 March 2018). Ivano-Frankivsk P. 114.

31. Cheremisina V. F. Comparative characteristic of activity of processes of prooxidant and antioxidant systems in blood and periodontal tissues. *Medications - to human. Modern problems of pharmacotherapy and prescription of medicines: II International. science-practice conf.* (Kharkiv, March 28-29, 2018). Kharkiv P. 312.

32. Cheremysina V. F. Inflammation - the main pathological process in diseases of the periodontal disease. *System of improvement of qualification of pedagogical personnel in universities of Uzbekistan: experience, priorities and prospects of development: scientific-practice. conf.* (Tashkent, April 18, 2018). Tashkent. P. 239.

33. Cheremisina V. F. Search for adequate models for modeling periodontal diseases in humans. *XXII International Medical Congress of Students and Young Scientists.* (Ternopil, April 23-25, 2018). Ternopil P. 85.

34. Cheremisina V. F. Biochemical changes of connective tissue in pathological processes. *Bulletin XVI read them. V.V. Podvesotsky* (Odessa, May 24-25, 2018). Odessa. P. 160–162.

35. Cheremisina V. F., Bereznyakova A. I. Oxiprolin - the main marker of metabolic processes in the connective tissue. *Actual problems of morphogenesis and remodeling of tissues and organs in norm and pathology: sciences-practice. conf. from international Participation* (Ternopil, September 20-21, 2018). Ternopil. P. 160–162.

36. Cheremisina V. F. Some hematological parameters in the experimental hydrocortisone periodontitis in rabbits. *Integrative mechanisms of pathological processes: from experimental research to clinical practice: VII Plenum of the*

Ukrainian Scientific Society of Pathophysiologists and Sciences. conf. dedicated to the 110th anniversary of the birth of the Corresponding Member of the Academy of Medical Sciences of the USSR, Professor M.N. Zayko. (Poltava, October 11-12, 2018). Poltava P. 123–124.

37. Cheremisina V. F. Influence of hormonal homeostasis in rats at inflammatory periodontal diseases on resorption and remodeling processes. *Integrative mechanisms of pathological processes: from experimental research to clinical practice*: VII Plenum of the Ukrainian Scientific Society of Pathophysiologists and Sciences. conf. dedicated to the 110th anniversary of the birth of the Corresponding Member of the Academy of Medical Sciences of the USSR, Professor M.N. Zayko. (Poltava, October 11-12, 2018). Poltava. P. 122.

38. Cheremisina V.F. Cytokine mechanisms in inflammatory periodontal diseases that alter connective tissue remodeling. Bulletin XVI readings them. VV Podvisotsky. (Odessa, May 21-22, 2019). Odessa. Pp. 186-187.

39. Cheremisina V.F. The inflammatory process in periodontitis: a local or generalized process of the body? Scientific-practical conference with international participation Galician readings "Contemporary ideas on the pathogenesis of inflammation: local and systemic mechanisms". (Ivano-Frankivsk, September 19-20, 2019). Ivano-Frankivsk. Pp. 67-68.

40. Cheremisina V.F., Bereznyakova A.I. Oxygen-dependent mechanisms in the pathogenesis of inflammatory periodontal diseases. Scientific-practical conference with international participation "Modern Pharmacy: History, Realities and Development Prospects", dedicated to the 20th anniversary of the Day of Pharmaceutical Worker of Ukraine. (Kharkiv, September 20, 2019). Kharkiv. Pp. 219-221.

ЗМІСТ

	С.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	31
ВСТУП	32
РОЗДІЛ 1. СПОЛУЧНА ТКАНИНА ЯК ЦІЛІСНА ФІЗІОЛОГІЧНА СИСТЕМА ОРГАНІЗМУ (Аналіз існуючих досягнень з даної наукової проблеми).....	44
1.1. Анатомо-фізіологічні особливості сполучної тканини	44
1.2. Сучасні уявлення про резорбцію та ремоделювання...	59
1.3. Біологія, патогенез та лікування запальних захворювань пародонта.....	71
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	92
РОЗДІЛ 3. ФІЗІОЛОГІЧНА СИСТЕМА СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ ТА ЇЇ РЕАКЦІЯ НА ГОСТРЕ ЛОКАЛЬНЕ ЗАПАЛЕННЯ В РІЗНИХ ОРГАНАХ.....	111
3.1. Реакція сполучної тканини різних органів на гостре скипидарне запалення шкіри спини щурів.....	111
3.2. Імуноморфологічні та імуногістохімічні особливості показників сполучної тканини пародонта при гінгівіті та пародонтиті.....	125
РОЗДІЛ 4. РОЛЬ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ ТА ГОРМОНІВ В МЕХАНІЗМАХ РЕЗОРБЦІЇ ТА РЕМОДЕЛЮВАННЯ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ ПАРОДОНТА.....	132
4.1. Значення кальцієво-фосфорного обміну в механізмах резорбції та ремоделювання тканин пародонта.....	132
4.2. Особливості обміну міді та цинку в периферичній крові щурів при гінгівіті та пародонтиті.....	135

4.3.	Вивчення ролі гормонального фактору (паратиреоїдний гормон, кальцитонін, естрадіол) щурів у механізмах формування захворювань пародонта.....	138
РОЗДІЛ 5.	ВИВЧЕННЯ КИСЛОТНО-ОСНОВНОГО СТАНУ КРОВІ ТА ЗМІЩАНОЇ СЛИНИ ПОРОЖНИНИ РОТА У ЩУРІВ ІЗ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ПАРОДОНТА.....	147
5.1.	Кисотно-основний стан слини порожнини рота щурів – індикатор захворювання тканин пародонта.	147
РОЗДІЛ 6.	ЗМІНИ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ТРОМБОЦИТАРНОЇ ЛАНКИ ГЕМОСТАЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МОДЕЛЮВАННІ ПОРУШЕНЬ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ПАРОДОНТА.....	158
6.1.	Зміни функціональної активності тромбоцитів при експериментальному моделюванні пародонтита, гінгівіта та альвеоліта.....	158
6.2.	Стан агрегації тромбоцитів і дія інтерлейкінів 4 та 6 при захворюваннях пародонта.....	163
РОЗДІЛ 7.	ОБМІННІ ПРОЦЕСИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ОРГАНІЗМА ТА ЇХ РОЛЬ В РЕЗОРБЦІЇ ТА РЕМОДЕЛЮВАННІ В ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА.....	170
7.1.	Рівень оксипроліну в крові тварин з пародонтитом, гінгівітом та альвеолітом.....	170
7.2.	Стан тканин пародонта, пов'язаний з порушеннями кисневого режиму.....	176
7.3.	Роль еритроцитів та циркулюючих імунних комплексів в патогенезі запальних захворювань пародонта.....	177
7.4.	Енергетичний метаболізм мітохондрій при	

	30
захворюваннях пародонта.....	184
РОЗДІЛ 8. ОСОБЛИВОСТІ АКТИВНОСТІ ЦИТОКІНІВ ТА МЕХАНІЗМИ ДІЇ РЕГУЛЯТОРНОГО ШЛЯХУ RANK- RANKL-OPG ПРИ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ ПАРОДОНТА	193
8.1. Вивчення ролі цитокінів (адипонектин, вісфатин) в механізмах регуляції процесів ремоделювання сполучної тканини пародонта при пародонтиті та альвеоліті.....	193
8.2. Механізми дії остеопротегерину, RANKL та інтерлейкіну 17 в резорбції та ремоделюванні тканин пародонта.....	199
РОЗДІЛ 9. МОРФОЛОГІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МАТЕРІАЛУ, ОТРИМАНОГО У ЩУРІВ ТА КРОЛІВ ІЗ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ПАРОДОНТА.....	211
9.1. Морфологія пародонтита у кролів (за методикою Alpdogan Kantaci, 2000).....	211
9.2. Морфологія пародонтиту у щурів (за методикою Євдокимова О. І. в модифікації Сукманського О. І. та Макаренко О. А., 2006).....	221
9.3. Морфологія гінгівіту у щурів (за методикою Левицького А. П. та співт., 2010).....	229
9.4. Морфологія постекстракційного альвеоліту у щурів (за методикою Черемісіної В. Ф. та співавт., 2018)....	233
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	241
ВИСНОВКИ.....	269
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	273
ДОДАТКИ.....	274

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АДФ	—	аденозиндифосфорна кислота;
АО	—	антиоксиданти;
АОС	—	антиоксидантна система;
АПІ	—	антиоксидантний-прооксидантний індекс;
БЗОП	—	білокзв'язаний оксипролін;
ВОП	—	вільний оксипролін;
ДНК	—	дезоксирибонуклеїнова кислота;
ДСТ	—	дисплазія сполучної тканини;
КЕ	—	кількість еритроцитів;
КТ	—	каталаза;
МДА	—	малоновий діальдегід;
од.опт.щ.	—	одиниця оптичної щільності
ОП	—	оксипролін;
ПЗОП	—	пептидозв'язаний оксипролін;
ПОЛ	—	перекисне окиснення ліпідів;
ПТГ	—	паратиреоїдний гормон;
РНК	—	рибонуклеїнова кислота;
СТ	—	сполучна тканина;
ВВ	—	буферні основи;
ВЕ	—	надлишок або дефіцит основ;
ІІ	—	інтерлейкін;
ОРР	—	остеопротегерин;
RANK	—	рецептор активатора ядерного фактора – κВ;
RANKL	—	ліганд рецептора активатора ядерного фактора – κВ;
SB	—	стандартний бікарбонат;
TGF	—	трансформуючий фактор росту;
Th	—	T-хелпери;
TNF	—	фактор некрозу пухлин.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Інтерес до сполучної тканини (СТ) на сьогодні суттєво виріс, про що свідчить ріст публікацій, що таким чи іншим чином стосуються її стану, ролі в розвитку та протіканні багатьох захворювань. Об'єктом підвищеної уваги дослідників стає аналіз взаємодії фізіологічних систем за умов патології. Так, вивчається проблема загальних патогенетичних механізмів серцево-судинних захворювань та порушень в кістковій тканині [2, 9, 19, 29, 31]. З'явилися дослідження по вивченню особливостей коморбідного протікання атеросклерозу та інволюційного остеопорозу [28]. Відоме обтяження прогнозу ішемічної хвороби серця, завдяки гіперкоагуляційним зсувам [7, 24, 26]. Встановлений зв'язок стресу [2, 4, 5] і порушення кисневого режиму пародонта при тривалій іммобілізації [20], зв'язок захворювань пародонта і цукрового діабету [1, 3, 12, 30, 33, 34], вплив оклюзійної травми та ураження великих суглобів в патогенезі захворювань пародонта [18, 25]. Вивчені деякі механізми участі фізіологічної системи СТ та вплив мікроелементів в формуванні патологічних процесів пародонта [6, 13, 16].

На сьогоднішній день не викликає сумніву значна роль СТ у формуванні резистентності організму до дії патогенних агентів. Вона бере участь у бар'єрних функціях організму, її елементи здійснюють фагоцитоз, володіють антитоксичною функцією, беруть участь в специфічних імунних реакціях [23], запаленні та загоєнні ран тощо [3]. Відповідно, СТ відіграє значну роль у патогенезі хвороб. Однак, робіт по вивченню резорбції та ремоделювання СТ пародонта ми, в доступній нам літературі, не знайшли.

Поряд з тим, запальні захворювання тканин пародонта представляють собою одну із найбільш складних проблем сучасної патофізіології та стоматології. Значна розповсюдженість, великий відсоток втрати зубів у пацієнтів [6], шкідливий вплив осередків пародонтальної інфекції на організм [21, 22] – все це визначає як медичну, так і соціальну значущість цієї проблеми. За даними ВООЗ більше 82 % населення страждають на запальні

захворювання тканин пародонта [8, 14, 18, 27, 32].

Тому, актуальним є дослідження конкретних механізмів участі СТ пародонта, які можуть попереджувати передчасне її руйнування та сприяти відновленню.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертацію виконано відповідно до плану наукових досліджень Національного фармацевтичного університету МОЗ України. Вона є самостійним фрагментом науково-дослідної теми «Клітинні та молекулярні механізми розвитку і корекції патологічних станів» (№ держ. реєстрації 0115U000966). Тему дисертації затверджено на засіданні Вченої ради Національного фармацевтичного університету МОЗ України (протокол № 1 від 24 січня 2016 р.).

Мета дослідження - з'ясувати загальні закономірності та особливості механізмів резорбції та ремоделювання СТ при запальних захворюваннях пародонта.

Для досягнення поставленої мети необхідно було виконати *такі завдання*:

1. Вивчити реакцію СТ пародонта та інших органів на гостре скипидарне запалення шкіри спини щурів і особливості імуноморфологічних та імуногістохімічних показників СТ пародонта при запаленні.

2. Дослідити роль обміну мікроелементів (кальцію, фосфору, міді і цинку) у щурів в механізмах формування резорбції та ремоделювання сполучної тканини пародонта.

3. Вивчити значення гормонального фактору (паратиреоїдний гормон, кальцитонін, естрадіол) у щурів в механізмах формування резорбції та ремоделювання сполучної тканини пародонта.

4. Визначити кислотно-основний стан крові та змішаної слини порожнини рота щурів, як індикатора захворювань тканин пародонта.

5. Виявити зміни функціональної активності тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному моделюванні порушень СТ пародонта.

6. Обґрунтувати роль обмінних процесів СТ (рівень оксипроліну) в патогенезі захворювань пародонта.

7. Дослідити стан тканин пародонта, пов'язаних із порушеннями кисневого режиму (ПОЛ, АОС, еритроцити, мітохондрії, циркулюючі імунні комплекси).

8. Вивчити особливості активності цитокінів та механізми дії регуляторного шляху RANK-RANKL-OPG при запальних захворюваннях пародонта (адипокін, вісфатин, остеопротегерин, RANKL, інтерлейкіни).

9. Підтвердити дослідженням макро- та мікроскопічного матеріалу запальний характер пародонтиту, гінгівіту та альвеоліту і участь остеобластів, остеокластів, фібробластів та інших клітин СТ в механізмах резорбції та ремоделювання.

Об'єкт дослідження – сполучна тканина пародонта та альвеолярний відросток нижньої щелепи у щурів.

Предмет дослідження – патогенетичні особливості механізмів резорбції та ремоделювання СТ пародонта при пародонтиті, гінгівіті, альвеоліті нижньої щелепи та альвеолярного відростку у щурів.

Методи дослідження: патофізіологічні, біохімічні, імуноферментні, імунологічні, гематологічні (агрегатометрія), гістологічні, гістохімічні, мікроскопічні, математичні (статистичний аналіз одержаних результатів).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше встановлено, що на експериментальне моделювання гострого скипидарного запалення шкіри спини щурів реагує сполучна тканина усіх органів і тканин організму, у тому числі й СТ пародонта. Імуногістохімічні дослідження, проведені нами вперше, показали, що в лейкоцитарному інфільтраті при пародонтиті з явною перевагою представлені CD4⁺ та CD8⁺ Т-лімфоцити. Агресія при пародонтиті направлена на слинні залози, переважно, дрібні, що, вцілому, запускає патологічний процес. Концентрація CD8⁺ Т-лімфоцитів навколо кровоносних судин при гінгівіті і зміни при пародонтиті з лімфоепітеліальними та лімфоендотеліальними пошкодженнями свідчать про

автоімунну цитотоксичну агресію в патогенезі вивчених захворювань. Вперше вивченням макро-мікроскопічного матеріалу підтверджено запальний характер захворювань тканин пародонта та участь клітин СТ в механізмах резорбції та ремоделювання кісткової тканини альвеолярного відростку нижньої щелепи. Вперше сформульовані загальні принципи оцінки стану СТ пародонта та визначена її роль в розвитку запальних захворювань. Вперше показаний механізм впливу тромбоцитарного компонента системи гемостазу на активацію проліферативних процесів в СТ пародонта при пародонтиті, гінгівіті та альвеоліті. Показано, що концентрація індуктора агрегації 10 мкмоль/л є основним молекулярним посередником зриву природного перебігу репаративної регенерації. Вперше показана роль механізмів регуляції системи СТ цитокінами у розвитку запальних захворювань пародонта. Визначено внесок дисбалансу міжклітинних медіаторів у розвиток системної відповіді СТ на пошкодження. Вперше встановлено, що в патогенезі запальних захворювань пародонта велике значення мають кисневозалежні механізми. На основі оцінки стану системи СТ організму запропоновані методи прогнозування тяжкості запальних захворювань пародонта. Вперше встановлено, що вивчені біохімічні маркери кісткового метаболізму (кальцій, фосфор, мідь, цинк) є важливими медіаторами в формуванні кісткової тканини. Вони можуть підтверджувати передчасне її руйнування та сприяти відновленню. Порушення балансу мікроелементів в організмі є одним із етіологічних факторів для змін ремоделювання кісткової тканини. Вперше одержана послідовність зниження оптичної густини кісткової тканини альвеолярного відростку нижньої щелепи у щурів при різних експериментальних моделях, що відображає значення гормонального фактору в патогенезі розвитку порушень метаболізму СТ пародонта. Показано, що зміни в крові щурів вмісту ПТГ та кальцитоніну можуть характеризувати один із механізмів регуляції дії системи СТ та їх участь у процесах резорбції та ремоделювання. Концентрація естрадіолу в крові самиць-щурів не впливає на процеси

резорбції та ремоделювання тканин пародонта. Вперше вивчена роль регуляторного шляху RANK-RANKL-OPG при запальних захворюваннях пародонта; встановлена його активація та наявність взаємозв'язку з про- та протизапальними цитокінами, у тому числі позитивна кореляція між RANKL та профібротичним TGF- β 1, яка найбільш виражена при пародонтиті, найменш – при альвеоліті. Основою цього процесу є дисбаланс у системі цитокінів – IL-1RA, IL-17 та вісфатину, а також дисбаланс (негативна кореляція) між рівнями TGF- β 1 та адипонектином. Встановлена активація регуляторного шляху RANK-RANKL-OPG у щурів при пародонтиті, що свідчить про залучення механізмів регулювання на рівні системи СТ організму.

Практичне значення одержаних результатів. Значущість роботи визначається отриманням нових знань про загальні механізми регулювання стереотипної відповіді на запалення та значення системи СТ в його реалізації, які розширюють та поглиблюють існуючі уявлення про роль СТ пародонта при запальних захворюваннях. Особливе значення має встановлення ролі біохімічних маркерів кісткового метаболізму, гормонального фактору, тромбоцитарної ланки гемостазу та міжклітинних медіаторів у формуванні відповіді СТ на пошкодження на рівні СТ пародонта. Завдяки цьому, результати роботи можуть бути використані у викладанні патофізіології та інших біологічних наук, у науково-дослідній роботі, а також для розробки способів діагностики та лікування запальних захворювань пародонта та відкриває нові можливості для встановлення зв'язків з іншими патологічними процесами в організмі.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології: Національного фармацевтичного університету, м. Харків; ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава; Запорізького державного медичного університету, м. Запоріжжя; Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці; Івано-Франківського національного медичного університету,

м. Івано-Франківськ; на кафедрі загальної та клінічної патофізіології імені В. В. Підвисоцького Одеського державного медичного університету, м. Одеса; Чорноморського національного університету імені Петра Могили, м. Миколаїв; ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського» МОЗ України, м. Тернопіль; на кафедрі фізіології Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці.

Особистий внесок здобувача. Автор разом із науковим консультантом висунула ідею роботи. Нею особисто проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз актуальності та ступеня вивчення проблеми. Сформульовано мету та завдання дослідження, розроблено методичні шляхи вирішення поставлених завдань, обрано та виконано експериментальні моделі, проведено математичну обробку одержаних числових даних, інтерпретовано одержані наукові факти, зроблено їх аналіз, написано усі розділи дисертаційної роботи та публікації. Гістологічні, морфологічні, лабораторні дослідження виконано за безпосередньої участі дисертанта. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, автору належить виконання експериментальних досліджень, статистична обробка даних, підготовка матеріалу до друку. У тій частині актів впровадження, що стосуються науково-практичної новизни, викладено фактичний матеріал автора.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були представлені на: I міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2017); 40-вій ювілейній науково-практичній конференції молодих вчених НМАПО імені П. Л. Шупика з міжнародною участю, присвяченій дню науки «Інновації в медицині: досягнення молодих вчених» (Київ, 2017); XVI читаннях імені В. В. Підвисоцького (Одеса, 2017); науково-практичної конференції молодих учених і студентів ТГМУ ім. Абуали ибн Сино с международным участием, посвященной «Году молодежи»: «Роль молодежи в развитии медицинской науки» (Душанбе, 2017); LX науково-практичній конференції, присвяченій 60-річчю ТДМУ «Здобутки

клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 2017); науково-практической конференції «Система підвищення кваліфікації педагогічних кадрів в ВУЗах Узбекистана: опыт, приоритеты и перспективы развития» (Ташкент, 2018); 87-ій науково-практичній конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2018); II міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2018); XXII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2018); XVII читаннях імені В. В. Підвисоцького (Одеса, 2018); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання морфогенезу та ремоделювання тканин і органів у нормі та патології» (Тернопіль, 2018); VII Пленумі Українського наукового товариства патофізіологів та науково-практичній конференції, присвячених 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М. Н. Зайка «Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики» (Полтава, 2018); бюлетень XVI читань ім. В. В. Підвисоцького (Одеса, 2019); науково-практичній конференції з міжнародною участю Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми» (Івано-Франківськ, 2019); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку», присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (Харків, 20 вересня 2019).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 40 наукових робіт, зокрема 23 статті у фахових наукових виданнях (з яких 3 статті – у виданнях, внесених до науково-метричної бази SCOPUS, 1 стаття – у виданні, внесеному до науково-метричної бази Web of science, 13 статей – у наукових фахових виданнях України, що реферуються міжнародними науково-метричними базами даних РІНЦ, Index Copernicus International, Google Scholar), 1 патент на корисну модель, 16 тез – у матеріалах конгресів і

конференцій з міжнародною участю.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, семи розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків і додатків, наприкінці кожного розділу подано список літератури. Загальна кількість використаних джерел літератури становить 352 найменування (184 кирилицею, 168 латиницею). Дисертаційна робота викладена на 291 сторінці комп'ютерного тексту. Робота ілюстрована 39 таблицями, 49 рисунками.

Список використаних джерел у вступі

1. Баліцька О. Ю. Роль антиоксидантного стресу у хворих з хронічним генералізованим пародонтитом і цукровим діабетом 2 типу. *Інтегративні механізми патологічних процесів : від експериментальних досліджень до клінічної практики* : матеріали VII Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів та наук.-практ. конф. Полтава, 2018. С. 6–7.
2. Влияние хронической сердечной недостаточности на микроциркуляторное русло органов полости рта и состояние тканей пародонта / Л. Ю. Орехова и др. *Маэстро стоматологии*. 2009. № 1 . С. 56–59.
3. Ганчев К. С., Абрамов А. В. Баланс ізоформ NOS у пародонті щурів з експериментальним цукровим діабетом. *Інтегративні механізми патологічних процесів : від експериментальних досліджень до клінічної практики* : матеріали VII Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів та наук.-практ. конф. Полтава, 2018. С. 17–18.
4. Гожая Л. Д. Риск развития заболеваний пародонта при наличии хронических социальных стрессов у клинически здоровых лиц. *Пародонтология*. 2012. № 1. С. 21–25.
5. Гороховский В. Н., Шнайдер С. А., Скиба А. В. Влияние острого эмоционально-болевого стресса на состояние пародонта крыс разного

возраста. *Інновації в стоматології*. 2017. Т. 3-4, № 16. С. 19–25.

6. Гудянов А. И., Фоменко Е. В. Этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта. М. : МИА, 2010. 96 с.

7. Доманова Е. Т., Зобнин В. В., Соловьев С. Н. Нарушения гемостаза при хронических заболеваниях пародонта. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2017. № 55 (1). С. 114–117.

8. Дослідження чутливості мікроорганізмів до комбінацій лізоциму з лікарськими речовинами / І. І. Романовська та ін. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18, № 2. С. 68–71.

9. Есипова А. А., Вилова Т. В. Хронические воспалительные заболевания пародонта как фактор риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у жителей европейского севера. *Врач-аспирант*. 2016. № 3 (1). С. 170–177.

10. Интерстициальный фиброз как определяющий фактор типа ремоделирования миокарда левого желудочка у больных артериальной гипертонией пожилого возраста / Н. К. Горшунова и др. *Курский научно-практический вестник «Человек и здоровье»*. 2015. № 3. С. 11–15.

11. Каськова Л. Ф., Новіков Є. М. Динаміка показників активності лізоциму та уреазы ротової рідини в дітей із хронічним катаральним гінгівітом у період змінного прикусу. *Укр. стомат. альм.* 2013. № 1. С. 84–87.

12. Левицкий А. П., Ступак Е. П., Фурдычко А. И. Биохимические изменения в пародонте крыс с аллоксановым диабетом и их коррекция лизоцимом. *Вісник Української стоматологічної академії*. 2013. № 2 (42). С. 42–46.

13. Літовка І. Г., Березовський В. Я. Вплив магнію на ремоделювання кісткової тканини. *Фізіологічний журнал*. 2018. Т. 64, № 3. С. 91–99.

14. Нечаева Г. И., Викторова И. В., Друк И. В. Дисплазия соединительной ткани: распространенность, фенотипические признаки, ассоциация с другими заболеваниями. *Врач*. 2016. № 1. С. 19–23.

15. Особенности цитокинового профиля крови и функционального состояния костной ткани у больных остеоартрозом с поражением крупных суставов / Е. В. Карякина и др. *Цитокины и воспаления*. 2015. № 2 (14). С. 92–96.

16. Павлов С. Б. Механізми участі фізіологічної системи сполучної тканини у формуванні патологічних процесів : дис. ... доктора біол. наук : 14.03.04 / Сергій Борисович Павлов. Суми, 2017. С. 394.

17. Пародонтит и соматические заболевания / Т. Р. Сутаева и др. *Стоматология большого Урала на рубеже веков*. 2015. С. 104–108.

18. Патогенетическая взаимосвязь воспалительных заболеваний пародонта с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью / Ю. Л. Осипова и др. *Фундаментальные исследования*. 2015. № 1-7. С. 1397–1400.

19. Порівняльний аналіз патобіохімічної реакції різних відділів слизової оболонки ротової порожнини щурів з експериментальним цукровим діабетом на ішемічно-реперфузійні пошкодження / С. С. Ткачук та ін. *Інтегративні механізми патологічних процесів : від експериментальних досліджень до клінічної практики* : матеріали VII Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів та наук.-практ. конф. Полтава, 2018. С. 118–120.

20. Порухення кисневого режиму пародонта при тривалій іммобіляції / І. М. Маньковська та ін. *Інтегративні механізми патологічних процесів : від експериментальних досліджень до клінічної практики* : матеріали VII Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів та наук.-практ. конф. Полтава, 2018. С. 112–113.

21. Пупін М. Т. Порівняльна оцінка активності факторів вірулентності мікрофлори, виділеної при пародонтитах та гінгівітах у осіб молодого віку. *Клінічна стоматологія*. 2013. № 3–4. С. 62.

22. Тимчук І. В., Панас М. А., Лещук С. Є. Вплив лізоциму і слини на адгезійні властивості *C. albicans*, виділених з ротової порожнини, в дослідях *in vitro*. *Acta medica Leopoliensia*. 2014. Т. 20, № 3–4. С. 45–50.

23. Чугай О. О., Регеда М. С. Роль імунних процесів у патогенезі коморбідної патології – експериментальної пневмонії та хронічного пародонтиту. *Інтегративні механізми патологічних процесів : від експериментальних досліджень до клінічної практики : матеріали VII Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів та наук.-практ. конф. Полтава, 2018. С. 124–125.*

24. Шехтман А. Г., Брылякова С. Н. Изменения некоторых показателей системы гемостаза в зависимости от выраженности потери костной массы у пожилых пациентов. *Геронтология и гериатрия. 2014. № 3. С. 167–169.*

25. Янушевич О. О., Рунова Г. С., Гончаренко А. Д. Влияние окклюзионной травмы на развитие заболеваний пародонта. *Российская стоматология. 2009. № 3. С. 16–19.*

26. Al-Rasheed A. Elevation of white blood cells and platelet counts in patients having chronic periodontitis. *Saudi Dent J. 2012. Vol. 24, №. 1. P. 17–21.*

27. Cecilian F., Giordano A., Spagnolo V. The systematic reaction during inflammation: the acute phase proteins. *Protein Pept. Lett. 2016. Vol. 9, №. 3. P. 211–223.*

28. Chamorro A. Role of inflammation in stroke and atherosclerosis. *Cerebrovasc. Dis. 2014. Vol. 17, №. 3. P. 15.*

29. Chopra R., Patil S. R., Mathur S. Comparisson of cardiovascular disease risk in two main forms of periodontitis. *Dent. Res. J. 2012. Vol. 9, №. 1. P. 74–79.*

30. Factors Associated with Periodontal Disease in Pregnant Diabetic Women / N. Anwar et al. *Mymensingh Med. J. 2016. Vol. 25, №. 2. P. 289–295.*

31. FGF-23 and osteoprotegerin are independently associated with myocardial damage in chronic kidney disease stages 3 and 4. ANother link between chronic kidney disease-mineral bone disorder and the heart / M. L. Ford et al. *Nephrol. Dial. Transplant. 2016. Vol. 27, №. 2. P. 727–733.*

32. Muhvic-Urek M., Tomac-Stojmenovic M., Mijandrusic-Sincic B. Oralpathology in inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterology*. 2016. Vol. 22, №. 25. P. 5655–5667.

33. Periodontal disease in diabetic patients – clinical and histopathological aspects / D. CorlanPuscu et al. *Rom. J. MorpholEmbryol*. 2016. Vol. 57, №. 4. P. 1323–1329.

34. Role of collagen enzymatic and glycation induced cross-links are as a determinant of bone quality in spontaneously diabetic WBN/Kob rats / M. Saito et al. *Osteoporosis International*. 2016. Vol. 17, №. 10. P. 1514–1523.

РОЗДІЛ 1

СПОЛУЧНА ТКАНИНА ЯК ЦІЛІСНА ФІЗІОЛОГІЧНА СИСТЕМА ОРГАНІЗМУ (Аналіз існуючих досягнень з даної наукової проблеми)

1.1. Анатомо-фізіологічні особливості сполучної тканини

Сполучною тканиною називають міжклітинний матрикс разом з клітинами різного типу, що в ньому знаходяться (фібробласти, хондро- і остеобласти, тучні клітини і макрофаги) [15]. Міжклітинний матрикс – складний комплекс зв'язаних між собою макромолекул. Ці макромолекули (білки і гетерополісахариди), як правило, секретуються самими клітинами, а в міжклітинному матриксі з них будується упорядкована сітка. Міжклітинний матрикс, що обмежує клітини, впливає на їх прикріплення, розвиток, проліферацію, організацію і метаболізм [17].

Міжклітинний матрикс виконує в організмі різноманітні функції: утворює каркас органів і тканин, є універсальним «біологічним» клеєм, бере участь в регуляції водно-сольового обміну, утворює високоспеціалізовані структури (кістки, зуби, хрящі, сухожилля, базальні мембрани) [15, 17].

Сполучна тканина – це тканина живого організму, що не відповідає безпосередньо за роботу будь-якого органу чи системи органів, але відіграє допоміжну роль у всіх органах, складаючи 60-90 % від їх маси. Виконує опорну, захисну і трофічну функції. Сполучна тканина утворює опорний каркас (stroma) і зовнішні покриви (дерму) всіх органів. Загальними властивостями всіх сполучних тканин є походження із мезенхіми, а також виконання опорних функцій і структурна схожість [35, 36].

Більша частина твердої сполучної тканини є фіброзною (від лат. fibra – волокно): складається із волокон колагену і еластину [42, 70, 71]. До сполучної тканини відносять кісткову, хрящову, жирову та інші. До сполучної тканини відносять також кров і лімфу. Тому сполучна тканина – єдина тканина, що наявна в організмі в 4-х видах – волокнистому (зв'язки), твердому (кістки), гелеподібному (хрящі) та рідкому (кров, лімфа, а також міжклітинна, спинномозкова, синовіальна та інші рідини).

Рихла сполучна тканина підшкірної клітковини, зуби, сухожилля і міжм'язові фасціальні прошарки, шкіра і внутрішньоорганна строма паренхіматозних органів, нейроглія і очеревина, фасції, зв'язки, сухожилля, кістки, хрящі, суглоби, суглобові сумки, сарколема і перемізей м'язових волокон, синовіальна рідина, кров, лімфа, судини, капіляри, сало, міжклітинна рідина, позаклітинний матрикс, склера, райдужка, мікроглія та інше – це все сполучна тканина [56].

Сполучна тканина складається із позаклітинного матриксу та декількох видів клітин. Клітини, що відносяться до сполучної тканини:

- ✓ фібробласти – продукують колаген і інші речовини позаклітинного матриксу, здатні до поділу;
- ✓ фіброкласти – клітини, здатні поглинати і перетравлювати міжклітинний матрикс, є зрілими фібробластами, до поділу не здатні;
- ✓ меланоцити – дуже розгалужені клітини, що містять меланін, присутні в райдужній оболонці очей і шкіри (за походженням – ектодермальні клітини, похідні нервового гребінця);
- ✓ макрофаги – клітини, що поглинають хвороботворні організми і відмерлі клітини тканини (за походженням моноцити крові);
- ✓ ендотеліоцити – оточують кровоносні судини, виробляють позаклітинний матрикс і продукують гепарин. Ендотеліоцити за більшістю ознак відносять до ендотелію;
- ✓ тучні клітини – продукують метакроматичні гранули, що містять гепарин і гістамін;
- ✓ мезенхімальні клітини – клітини ембріональної сполучної тканини [56].

Міжклітинна рідина сполучних тканин (позаклітинний матрикс) містить багато різних органічних і неорганічних сполук, від кількості і складу яких залежить консистенція тканини. Кров і лімфа, що відносяться до рідких сполучних тканин, містять рідку міжклітинну рідину – плазму. Матрикс хрящової тканини гелеподібний, а матрикс кістки, як і волокна

сухожиль – нерозчинні тверді речовини.

Сполучна тканина поділяється на власне сполучну тканину, скелетну тканину – кісткову і хрящову, сполучну тканину зі специфічними властивостями – жирову, слизову, пігментну, ретикулярну. Всі різновиди сполучної тканини, незважаючи на їх морфологічні відмінності, побудовані за загальним, єдиним принципом, що в основному ґрунтується на наступному:

1. сполучна тканина, яка і будь-яка інша, містить клітини, однак міжклітинна рідина займає більше місця, чим клітинні елементи;
2. для сполучної тканини характерна наявність своєрідних волонистих (фібрилярних) структур: колагенових, еластичних і ретикулінових волокон, що розміщені в обмеженні проміжної субстанції;
3. міжклітинна речовина сполучної тканини має досить складний хімічний склад.

Сполучна тканина представлена білками – колагеном і еластином, глікопротеїдами і протеогліканами, глікозаміногліканами (ГАГ), а також неколагеновими структурними білками – фібронектином, ламініном та ін. [46, 53, 79, 80].

Вона визначає морфологічну і функціональну цілісність організму. Для неї характерні універсальність, тканинна спеціалізація, поліфункціональність, багатокomпонентність і поліморфізм, висока здатність до адаптації. Основними клітинами сполучної тканини є фібробласти. В них здійснюється синтез колагену і еластину, протеогліканів, ферментів. В зв'язку із слабкістю зв'язкового апарату, недостатньою щільністю колагенових волокон можуть розвиватися такі захворювання, як плоскостопість, сколіоз, гіпермобільність суглобів, підвищується ризик відшарування сітківки, опущення різних органів [33, 36]. Порушення імунітету також можна віднести до захворювань сполучної тканини, оскільки за імунітет відповідає також переважно вона, в основному – лімфатична і кровоносна системи, що до неї відносяться [75, 76]. До захворювань та вад

сполучної тканини відносяться захворювання крові, імунодефіцит, сепсис, гангрена, остеопороз.

Характерним компонентом структури сполучної тканини є колагенові волокна. Вони побудовані, в основному, із своєрідного білка – колагену. Колаген складає 25-33 % від загальної кількості білка організму дорослої людини, чи 6 % від маси тіла. Назва «колаген» об'єднує сімейство близькоспоріднених фібрилярних білків, що є основним білковим елементом шкіри, кісток, сухожиль, хряща, кровоносних судин, зубів. В різних тканинах переважають різні типи колагену [82], а це, в свою чергу, визначається тією роллю, яку колаген відіграє в конкретному органі чи тканині. Наприклад, в пластинчастій кістковій тканині, із якої побудована більшість плоских та трубчастих кісток скелету, колагенові волокна мають строго орієнтоване направлення: поздовжнє – в центральній частині пластинок, поперечне та під кутом – в периферичній. Це сприяє тому, що навіть при розшаруванні фібрили однієї пластинки можуть продовжуватися в сусідні, створюючи таким чином єдину волокнисту структуру кістки. Поперечно орієнтовані колагенові волокна можуть вплітатися в проміжні шари між кістковими пластинками, завдяки чому досягається щільність кісткової тканини. В сухожиллях колаген утворює щільні паралельні волокна, які дають можливість цим структурам витримувати механічні навантаження. В хрящовому матриксі колаген утворює фібрилярну сітку, що надає хрящу щільності, а в рогівці ока колаген бере участь в утворенні гексагональних решіток десцеметових мембран, що забезпечує міцність рогівки, а також участь цих структур у приломленні світлових променів. В дермі фібрили колагену орієнтовані таким чином, що формують сітку, особливо добре розвинену в ділянках шкіри, на які діє сильний тиск (шкіра підошви, ліктів, долоней), а в рані, що загоюється, вони агреговані досить хаотично [99].

Колаген – яскраво виражений поліморфний білок. На сьогодні відомо 19 видів колагену, що відрізняються один від одного за первинною структурою пептидних ланцюгів, функціями та локалізацією в організмі.

Варіантів α -ланцюгів, що утворюють потрійну спіраль, набагато більше 19 (близько 30). Для позначення кожного виду колагену використовують формулу, в якій тип колагену записується римською цифрою в дужках, а для позначення α -ланцюгів використовують арабські цифри: наприклад, колагени II та III типу утворені ідентичними α -ланцюгами, їх формули, відповідно $[\alpha 1(\text{II})]_3$ та $[\alpha 1(\text{III})]_3$; колагени I і IV типів є гетеротримерами і утворюються зазвичай різними типами α -ланцюгів, їх формули, відповідно $[\alpha 1(\text{I})]_2\alpha 2(\text{I})$ і $[\alpha 1(\text{IV})]_2\alpha 2(\text{IV})$. Індекс за дужками означає кількість ідентичних α -ланцюгів.

Гени колагену називаються відповідно типам колагену та записуються арабськими цифрами, наприклад COL1 – ген колагену I типу, COL2 – ген колагену II типу, COL7 – ген колагену VII типу і т.д. До цього символу дописується літера A (означає α -ланцюг) та арабська цифра (означає вид α -ланцюга). Наприклад, COL1A1 і COL1A2 кодують, відповідно, $\alpha 1$ і $\alpha 2$ -ланцюги колагену I типу [105].

Синтез і дозрівання колагену – складний багатоетапний процес, що починається в клітині, а закінчується в міжклітинному матриксі. Синтез і дозрівання колагену включає в себе цілий ряд посттрансляційних змін: гідроксилювання проліну і лізину з утворенням гідроксипроліну і гідроксилізину; глікозилювання гідроксилізину; частковий протеоліз – відщеплення «сигнального» пептиду, а також N- та C-кінцевих пропептидів; утворення потрійної спіралі.

Колагенові волокна, видимі в оптичному мікроскопі, складаються із фібрил, що відрізняються в електронному мікроскопі – витягнутих в довжину білкових молекул, що мають назву тропоколаген. Він – це основна структурна одиниця колагену. Необхідно чітко відрізнити поняття «колагенові волокна» і «колаген». Перше поняття по своїй суті є морфологічним і не може зводитися до біохімічних уявлень про колаген як білок. Колагенове волокно представляє собою гетерогенне утворення і містить, окрім білка колагену, інші хімічні компоненти [100]. Молекула тропоколагену – це білок колаген. Однією із відмінностей є те, що 1/3 всіх

його амінокислотних залишків складає гліцин, $1/3$ – пролін і 4-гідроксипролін, близько 1 % - гідроксилізін; деякі молекулярні форми колагену містять також 3-гідроксипролін, хоча і в досить обмеженій кількості [37, 53, 54].

Молекулярна маса тропоколагену близько 280 000. Він складається із трьох поліпептидних ланцюгів однакового розміру, що зливаються в спіралеподібний триплет. Потрійна спіраль стабілізується численними міжланцюговими поперечними зшивками між лізиновими і гідроксилізиновими залишками. Кожен поліпептидний ланцюг тропоколагену містить близько 1000 амінокислотних залишків. Таким чином, основна структурна одиниця колагену має досить великі розміри.

Як і всі білки, колаген синтезується клітинами із вільних амінокислотних залишків. Вони в свою чергу, специфічні для молекули колагену. Гідроксипролін і гідроксилізін не утворюються із відповідних вільних амінокислот. Ці амінокислотні залишки з'являються після включення проліну і лізину в поліпептидний ланцюг за участі ферментів пролілгідроксилази чи лізилгідроксилази і кофактора – аскорбінової кислоти.

Колаген – позаклітинний білок, але він синтезується у вигляді внутрішньоклітинної молекули-попередника, що перед утворенням фібрил зрілого колагену піддається посттрансляційній модифікації. Попередник колагену (спочатку це препроколаген, а потім проколаген) зазнає процесингу в ході проходження через ендоплазматичний ретикулум та комплекс Гольджідо появи у позаклітинному просторі. Позаклітинні аміно- і карбоксипролеаза проколагену видаляють відповідно амінокінцевою і карбоксикінцевою пропептидами. Тільки утворені молекули колагену спонтанно збираються в колагенові фібрили. В результаті перехресного зв'язування ланцюгів та спіральних молекул фібрил через основи Шиффа і альдольну конденсацію (тобто перехресне зв'язування їх поряд ковалентних зв'язків) утворені фібрили набувають силу напруги зрілих колагенових фібрил [15, 56].

Як і будь-який білок, колаген функціонує в організмі певний час. Його відносять до повільних обмінних білків; $T_{1/2}$ складає тижні чи місяці. Руйнування колагенових волокон здійснюється активними формами кисню та/або ферментативно (гідролітично).

Нативний колаген не гідролізується звичайними пептидгідролазами. Основний фермент його катаболізму – колагеназа, що розщеплює пептидні зв'язки в певних ділянках спіралізованих областей колагену. Відомо 2 типи ферментів.

Тканинна колагеназа присутня у людини в різних органах і тканинах. В нормі вона синтезується клітинами сполучної тканини, перш за все фібробластами та макрофагами. Тканинна колагеназа – металовмістний фермент, що містить Zn^{2+} в активному центрі. На даний час відомі 4 ізоформи цього ферменту. Активність колагенази залежить від співвідношення в міжклітинному матриксі її активаторів та інгібіторів. Серед активаторів особливу роль відіграють плазмін, калікреїн та катепсин В. Тканинна колагеназа володіє високою специфічністю, вона перерізає потрібну спіраль колагену у певній ділянці, приблизно на $\frac{1}{4}$ відстані від С-кінця, між залишками гліцину та лейцину (чи ізолейцину).

Фрагменти, що утворює колагеназа розчинні у воді, при температурі тіла вони спонтанно денатуруються і стають доступними для дії інших протеолітичних ферментів. Порушення катаболізму колагену призводить до фіброзу органів та тканин (в основному печінки та легень). А посилення розпаду колагену відбувається при аутоімунних захворюваннях (ревматоїдному артриті та системному червоному вовчаку) в результаті надлишкового синтезу колагенази при імунній відповіді [37, 38, 79, 80].

Бактеріальна колагеназа синтезується деякими мікроорганізмами. Наприклад, *Clostridium histolyticum* (збудник газової гангрені) виділяє колагеназу, що розщеплює пептидний ланцюг колагену більш ніж в 200 ділянках.

Таким чином, руйнуються сполучнотканинні бар'єри в організмі

людини, що забезпечує проникнення (чи інвазію) цього мікроорганізму та сприяє виникненню та розвитку газової гангрені. Сам збудник не містить колагену і тому не схильний дії колагенази. Колагеназа використовується в медичній практиці для лікування опікової хвороби в хірургії та для лікування гнійних захворювань очей в офтальмології.

В результаті розпаду колагену в крові та сечі з'являється вільний гідроксипролін. Більша частина цієї амінокислоти метаболізується під дією ферменту гідроксипролінооксидази, а частина її виділяється із сечею, тому гідроксипролін є маркерною амінокислотою, за якою свідчать про швидкість розпаду колагену.

При деяких захворюваннях, пов'язаних із пошкодженням сполучної тканини, екскреція гідроксипроліну збільшується внаслідок прискореного розпаду колагену. Це спостерігається при захворюванні Педжета, гіперпаратиреозі, колагенозах, деяких інфекційних хворобах. При порушенні катаболізму гідроксипроліну, причиною якого, зазвичай, виступає дефект ферменту гідроксипролінооксидази, виділення гідроксипроліну може перевищувати 1 г/добу. У молодих людей обмін колагену протікає інтенсивно, з віком (особливо в похилому віці) помітно знижується, оскільки у людей похилого віку та літніх людей підвищується кількість поперечних зшивань, що ускладнює доступність колагену для дії колагенази. Тому, якщо у молодих людей віком 10-20 років вміст гідроксипроліну у сечі може досягати 200г/добу, то з віком екскреція гідроксипроліну знижується до 15-20 г/добу.

В деяких ситуаціях синтез колагену помітно збільшується. Наприклад, фібробласти мігрують в рану, що загоюється, та починають активно синтезувати в цій ділянці основні компоненти міжклітинного матриксу. Результат цих процесів – утворення на місці рани сполучнотканинного рубця, що містить велику кількість хаотично розміщених фібрил колагену. Подібним чином відбувається заміщення клітин сполучної тканини, що руйнуються, при цирозі печінки, в стінках артерій при атеросклерозі, в м'язах

при їх дистрофії.

Синтез колагену регулюється різними способами. Перш за все, сам колаген та N-про-пептиди після свого відщеплення гальмують трансляцію колагену за принципом негативного зворотного зв'язку. Аскорбінова кислота стимулює синтез колагену та протеогліканів, а також проліферацію фібробластів.

Особливу роль в регуляції синтезу колагену відіграють гормони. Глюкокортикоїди, по-перше, шляхом зниженням рівня мРНК проколагену, а по-друге – інгібуванням активності ферментів пролілілізилгідроксилази. Недостатнє гідроксилювання залишків проліну та лізину підвищує чутлиість колагену до дії колагенази та неспецифічних протеаз. Макроскопічно пригнічуюча дія глюкокортикоїдів на синтез колагену проявляється зменшенням товщини дерми, а також атрофією шкіри в місцях тривалого парентерального введення цих гормонів.

На синтез колагену впливають також статеві гормони, рецептори яких виявлено не тільки в стромі статевих органів, але і в фібробластах інших органів і тканин. Обмін колагену в матці знаходиться під контролем статевих гормонів. Синтез колагену шкіри залежить від вмісту естрогенів, що підтверджує той факт, що у жінок в менопаузі знижується вміст колагену в дермі.

Існує ряд захворювань, пов'язаних з порушенням структури чи синтезу колагену [25]. Основна причина - мутації в генах колагену, що широко представлені в різних хромосомах. Вони досить великі, мають багато коротких екзонів, між якими розміщуються великі інтрони. Оскільки 50 % всіх колагенових білків міститься в тканинах скелету, близько 40 % - в шкірі та 10 % - в стромі внутрішніх органів, клінічна картина захворювань, викликаних дефектами синтезу та дозрівання колагену, буде досить поліморфною. При багатьох захворюваннях спостерігають не тільки кістково-суглобову патологію [29] чи зміни з боку шкіри, але і яскраво виражені вісцеральні прояви (пошкодження кишечника, нирок, легень, серця,

судин) [46, 53, 56, 91, 92].

Від колагену за хімічним складом та молекулярною масою відрізняється еластин, котрий є основним білковим компонентом, з якого складаються еластичні волокна. Загальним для еластину та колагену є великий вміст гліцину і проліну, наявність оксипроліну, хоча останнього в еластині приблизно в 10 разів менше, чим в колагені. Як і в колагені, в еластині мало метіоніну та відсутні триптофан і цистеїн.

На відміну від колагену в еластині значно більше валіну та аланіну, та менше глютамінової кислоти та аргініну. В цілому, характерною особливістю первинної структури еластину є занадто низький вміст полярних амінокислотних залишків. При ферментативному гідролізі еластину в гідролізаті виявляються десмозин і ізодесмозин. Ці сполуки містяться тільки в еластині. Структура їх досить незвичайна: чотири залишки лізину сполучаються своїми радикалами та утворюють заміщене піридинове кільце. Вважають, що при утворенні десмозину спочатку три залишки лізину окиснюються до відповідних ϵ -альдегідів, а потім відбувається їх сполучення з четвертим залишком лізину.

Саме завдяки своїй структурі десмозин та ізодесмозин можуть одночасно входити до складу чотирьох пептидних ланцюгів. Це можна пояснити тим чином, що еластин на відміну від інших фібрилярних білків здатний розтягуватися в двох напрямках. В гідролізатах еластину знайдена ще одна незвичайна «амінокислота», пік якої розміщений між орнітином і лізином. Виявилось, що це лізиннорлейцин, що забезпечує поряд з десмозином і ізодесмозином поперечні зв'язки в молекулі еластину.

Еластин разом з колагеном, протеогліканами та рядом гліко- і мукопротеїдів є продуктом біосинтетичної діяльності фібробластів [102]. Безпосереднім продуктом клітинного біосинтезу вважається не еластин, а його попередник – тропоеластин (в колагені – проколаген). Тропоеластин не містить поперечних зв'язків, володіє розчинністю. В подальшому тропоеластин перетворюється в зрілий еластин, нерозчинний, містить велику

кількість поперечних зв'язків.

Основну субстанцію міжклітинного матриксу сполучної тканини утворюють протеоглікани [56]. Протеоглікани – високомолекулярні вуглеводно-білкові сполуки, на долю яких приходить до 30 % від сухої маси сполучної тканини. В теперішній час вони називаються глікозаміногліканами – це лінійні нерозгалужені полімери, побудовані із дисахаридних одиниць, що повторюються. В організмі глікозаміноглікани не зустрічаються у вільному стані, тобто у вигляді «чистих» вуглеводів. Вони завжди зв'язані з більшою або меншою кількістю білка. До їх складу обов'язково входять залишки мономеру або глюкозаміну, або галактозаміну. Другий головний мономер дисахаридних одиниць також представлений двома різновидами: D-глюкуроною та L-ідуроною кислотами. На сьогодні чітко розшифрована структура шести основних класів глікозаміногліканів.

Із всіх глікозаміногліканів велику молекулярну масу має гіалуронова кислота (100 000 – 10 000 000). Вперше ця кислота була виявлена в склоподібному тілі ока. Доля зв'язаного з гіалуроною кислотою білка в молекулі протеоглікану складає не більше 1-2 % від його загальної маси. Основна функція гіалуронової кислоти в сполучній тканині – зв'язування води. В результаті такого зв'язування міжклітинна рідина набуває характер желеподібного матриксу, здатного «підтримувати» клітини. Важлива також роль гіалуронової кислоти в регуляції проникності тканин.

Хондроїтин-4-сульфат та хондроїтин-6-сульфат побудовані за одним принципом. Відмінності між ними полягають в локалізації сульфатної групи. Незважаючи на мінімальні відмінності в хімічній структурі, фізико-хімічні властивості хондроїтин-4-сульфату та хондроїтин-6-сульфату суттєво відрізняються; останні відрізняються також в різних видах сполучної тканини.

Дерматансульфат особливо характерний для дерми (шкіри). Він резистентний до дії гіалуронідаз (тестикулярної і бактеріальної). В цьому

одне із відмінностей дерматансульфату від хондроїтинсульфатів. Крім цього, до складу дисахаридної одиниці дерматансульфату входить L-ідуронова, а не D-глюкуронова кислота. Про біологічну роль дерматансульфату майже нічого не відомо. Роль цього глікозаміноглікану не може бути зведеним тільки до стабілізації колагенових пучків, оскільки дерматансульфат виявляється і в тканинах ектодермального походження, що не містять колаген.

До глікозаміногліканів відноситься і гепарин, хоча він відомий, перш за все, як антикоагулянт. Гепарин синтезується тучними клітинами, які є різновидом клітинних елементів сполучної тканини. Він може входити до складу протеогліканів, з глікозаміногліканами його об'єднує і хімічна структура.

Відомо, що синтез глюкозаміну і глюкуронової кислоти, що входять до складу гіалуронової кислоти, відбувається з D-глюкози. Безпосередні попередники гіалуронової кислоти – нуклеотидні похідні N-ацетилглюкозаміну та глюкуронової кислоти. Попередником вуглеводних залишків сульфатованих глікозаміногліканів, як і у гіалуронової кислоти, є молекула D-глюкози. Потім відбувається епімеризація глюкозаміну в галактозамін, а глюкуронової кислоти при синтезі дерматансульфату – в ідуронову кислоту. В процесі біосинтезу глікозаміногліканів бере участь велика кількість різних ферментів.

В сполучній тканині всі глікозаміноглікани знаходяться в сполученні з білками. Термін «протеоглікан» використовують для визначення речовин, в яких поліпептидна та полісахаридна частини молекули сполучені міцним ковалентним зв'язком. Прикладом протеоглікану може слугувати гіалуропротейн, що виділяється із синовіальної рідини та містить всього 2,2-2,3 % білка. У різних протеогліканів білкові компоненти різні, вони не мають нічого спільного з фібрилярними білками сполучної тканини – колагеном та еластином.

В сполучній тканині протеоглікани утворюють ряд «монтажів»

послідовно зростаючої складності, свого роду «ієрархії» макромолекулярних агрегатів. Функції протеогліканів в сполучній тканині в більшості визначаються властивостями глікозаміногліканів, що входять до їх складу. Так, іонообмінна активність глікозаміногліканів як поліаніонів обумовлює активну роль протеогліканів в розподілі ряду катіонів в сполучній тканині. Наприклад, накопичення кальцію у вогнищах осифікації пов'язане з одночасним накопиченням хондроїтин-сульфатів, що активно фуксують катіони кальцію. Такі функції протеогліканів, як функція зв'язування води та регуляція процесів дифузії, також в значній мірі залежать від властивостей глікозаміногліканів, що входять до їх складу.

До факторів, що регулюють метаболізм сполучної тканини, перш за все, слідує віднести ферменти, гормони і вітаміни. Більшість гормонів обумовлюють дію переважно на окремі різновиди сполучної тканини. Так, ряд глюкокортикоїдних гормонів (кортизон та його аналоги) пригнічують біосинтез колагену фібробластами, гальмують і іншу найважливішу функцію фібробластів – біосинтез глікозаміногліканів. Можливо, дія глюкокортикоїдних гормонів на сполучну тканину не обмежується пригніченням біосинтетичної активності фібробластів. Припускають, що під їх впливом відбувається активація ферментного катаболізму колагену.

Мінералокортикоїдні гормони наднирників, навпаки, стимулюють активацію фібробластів і одночасно посилюють біосинтез «основної речовини» сполучної тканини.

Загальною віковою зміною, що характерна всім видам сполучної тканини, є зменшення кількості води і відношення: основна речовина/волокно. Показник цього співвідношення зменшується за рахунок наростання вмісту колагену, оскільки в результаті зниження концентрації глікозаміногліканів в першу чергу значно знижується рівень гіалуронової кислоти. Однак не тільки зменшується загальна кількість кислих глікозаміногліканів, але змінюється і кількісне співвідношення окремих гліканів. Одночасно також відбуваються зміна фізико-хімічних властивостей

колагену (збільшення числа і щільності всередині та міжмолекулярних поперечних зв'язків, зниження еластичності та здатності до набухання, розвитку резистентності до колагенази та ін.), підвищується структурна стабільність колагенових волокон. Варто пам'ятати, що старіння колагену не рівноцінне зносу. Воно є своєрідним результатом протікаючих в організмі метаболічних процесів, що впливають на молекулярну структуру колагену.

Серед багатьох пошкоджень сполучної тканини особливе місце займають колагенози [27]. Для них характерне пошкодження всіх структурних складових частин сполучної тканини: волокон, клітині міжклітинної основної речовини. До колагенозів зазвичай відносять ревматизм, ревматоїдний артрит, системний червоний вовчак, системну склеродермію, дерматоміозит та вузликівий периартеріт. Кожне із цих захворювань має своєрідне протікання та власне індивідуальні прояви.

Крім того, необхідно відмітити, що порушення процесу гідроксилювання колагену – один із біохімічних дефектів при цингі. Колаген, синтезований в нестачі чи при дефіциті аскорбінової кислоти, виявляється недогідроксильованим і, як наслідок, має знижену температуру плавлення. Такий колаген не може утворювати нормальні за структурою волокна, що і призводить до пошкодження шкіри та ламкості судин.

Таким чином, сучасні дослідження розширили представлення про функції сполучної тканини, із яких провідна роль – інтеграція в єдине ціле різних органів та тканин організму. Ця функція проявляється в процесах адаптації організму, які забезпечуються направленою міграцією клітин, транспортом біологічно активних, поживних та інших речовин, перерозподілом рідинних потоків, змінами проникності біологічних мембран. Міжклітинна речовина виконує роль депо для накопичення та наступного виділення надлишку рідини. До функцій сполучної тканини відносять також морфогенетичну, трофічну (метаболічну), опорно-механічну (біомеханічну), захисну (бар'єрну), пластичну.

Трофічна функція сполучної тканини полягає у забезпеченні активного

обміну між кров'ю та тканинами, участю в регуляції обмінних процесів за рахунок синтезу і секреції цитокінів, ферментів, простагландинів та ін. Забезпечується властивостями аморфної рідини і клітин сполучної тканини. Опорно-механічна функція забезпечує рухову здатність організму, захист органів від пошкодження. Обумовлена в першу чергу колагеновими волокнами, а також хімічним складом міжклітинної рідини. Бар'єрна функція сполучної тканини включає в себе не тільки механічну, але і елементи імунного захисту, синтез речовин з антимікробною дією. Забезпечується фагоцитами, імунокомпетентними клітинами, гемопоетичними тканинами. Пластична функція (регенерація та заміщення дефектів) пов'язана з функцією клітинних елементів, перш за все – фібробластів. З пластичною функцією тісно пов'язана морфогенетична функція – формування структури органів і тканин в ембріогенезі та постнатальному періоді. Забезпечується діяльністю фібробластів [27].

Таким чином, сполучна тканина – це складна структурна та морфофункціональна система, що об'єднує в єдине ціле різні органи і тканини організму. Тому від метаболічних процесів, що відбуваються в сполучній тканині, залежать процеси адаптації організму, стабільність його органів і систем. Сполучна тканина, виконуючи чисельні і досить важливі функції, реагує практично на всі фізіологічні та патологічні дії. При цьому морфологічні зміни саме в сполучній тканині в основному стереотипні. В той же час, пошкодження сполучної тканини провокує виникнення вторинних порушень з боку внутрішніх органів і систем, що проявляється розвитком хронічних захворювань, які нерідко і визначають прогноз основного патологічного процесу. Розуміння особливостей сполучної тканини і різні прояви її порушень можуть складати основу профілактики, формування та прогресування багатьох хронічних станів, в тому числі в захворювань тканин пародонту.

1.2. Сучасні уявлення про резорбцію та ремоделювання

Резорбція кісткової тканини (руйнування, розсмоктування кістки, остеоліз) відбувається за участі гігантських багатоклітинних клітин, так званих остеокластів, які також мають велику кількість лізосом, мітохондрій та вакуолей [36, 47, 51].

Остеокласт – це основна клітина, яка бере участь в процесі резорбції кістки. Характерною особливістю остеокласта є поява функціональної ділянки – «гофрованого краю» чи щіткова облямівка при активізації цих клітин. «Гофрований край» - це спірально-скручена мембрана клітини з численними цитоплазматичними складками, яка повернута в бік процесу резорбції, що розвивається, і є місцем активного окиснення тканин. Група остеокластів розчиняє мінеральний компонент кістки, а також гідролізує органічний матрикс. Руйнування кістки починається з прикріплення остеокластів до мінералізованої кісткової поверхні «гофрованим краєм», через який виділяються гідролітичні ферменти і протони, а також різні інтегрини, які беруть участь в розчиненні кістки. Інші клітини, які задіяні у процесі резорбції кісткової тканини – це моноцити і макрофаги. Вони взаємодіють з кістковою тканиною за допомогою фагоцитозу і хемотаксису, в більшості випадків діючи як «прибиральники сміття». Крім фагоцитарної активності продукуються цитокіни (IL-1, IL-1 α , IL-1 β , ФНП- α та ін.) [], які впливають на активізацію колагеназ та руйнують білковий матрикс. Крім цього, моноцити і макрофаги розглядаються багатьма вченими як попередники остеокластів. Є відомості про вплив лімфоцитів на резорбцію кісткової тканини за допомогою секреції ФНП- β , а також через 1,25-дигідроксивітамін D і паратиреоїдний гормон, до яких лімфоцити мають рецептори.

Резорбція кісткової тканини є частиною як фізіологічного процесу, так і патологічного [49]. Патологічна кісткова резорбція може бути обмеженою (локальною), що спровоковано місцевим запаленням, наприклад, внаслідок травми або інфекції [50]. При цьому запускаються локальні

фактори, що активують резорбцію (фактори росту, цитокіни, простагландини та ін.) Підвищена кісткова резорбція може проявлятися в багатьох ділянках скелета, тобто мати системний характер. У цих випадках задіяні системні регулятори. Така резорбція кісткової тканини спостерігається при багатьох метаболічних захворюваннях скелету, особливо при остеопенії і остеопорозі, захворюваннях ендокринної системи, ревматичних захворюваннях, захворюваннях органів шлунково-кишкового тракту, нирок, крові, а також при генетичних порушеннях і прийомі деяких медикаментів [7, 8, 16, 43, 54, 58].

Фізіологічна кісткова резорбція є невід'ємною частиною функціонування кістки, яка постійно оновлюється за рахунок двох протилежних процесів – руйнування та утворення кісткової тканини. Кісткова тканина – це динамічна система з активним метаболізмом. Послідовний ланцюг процесів видалення ділянок старого кісткового матриксу і заміщення його новим має назву ремоделювання кісткової тканини або кісткове ремоделювання. У дитячому віці за рахунок саме цих процесів відбувається ріст скелету, в цьому періоді утворення кісткової тканини природним шляхом переважає над резорбцією. Локальним проявом фізіологічної кісткової резорбції також може слугувати процес прорізування зубів, в якому просуванню зубного фолікула передують активна резорбція щелепної кісткової тканини. У сформованому скелеті (зрілий вік) процеси розсмоктування старої кістки та утворення нової в цілому врівноважені. Проте, з віком процеси ремоделювання поступово зміщуються в сторону резорбції, і кількість кісткової тканини, що розсмокталася, починає переважати над новоствореною, в результаті чого і відбувається поступова втрата кісткової маси, що може призводити спочатку до вікової остеопенії, а потім і до – остеопорозу [44].

Ремоделювання кістки не тільки забезпечує збереження і оновлення скелету, але і відіграє важливу роль в мінеральному обміні, оскільки кістка є природним резервуаром мікроелементів (кальцію, магнію і фосфатів), які в

період резорбції поступово вивільнюються і надходять до кровотоку [29, 44, 57].

Процес перебудови (ремоделювання) кісткової тканини відбувається в окремих ділянках кістки, які носять назву «одиниці ремоделювання» або базової багатокутної одиниці (рис.1.1.).

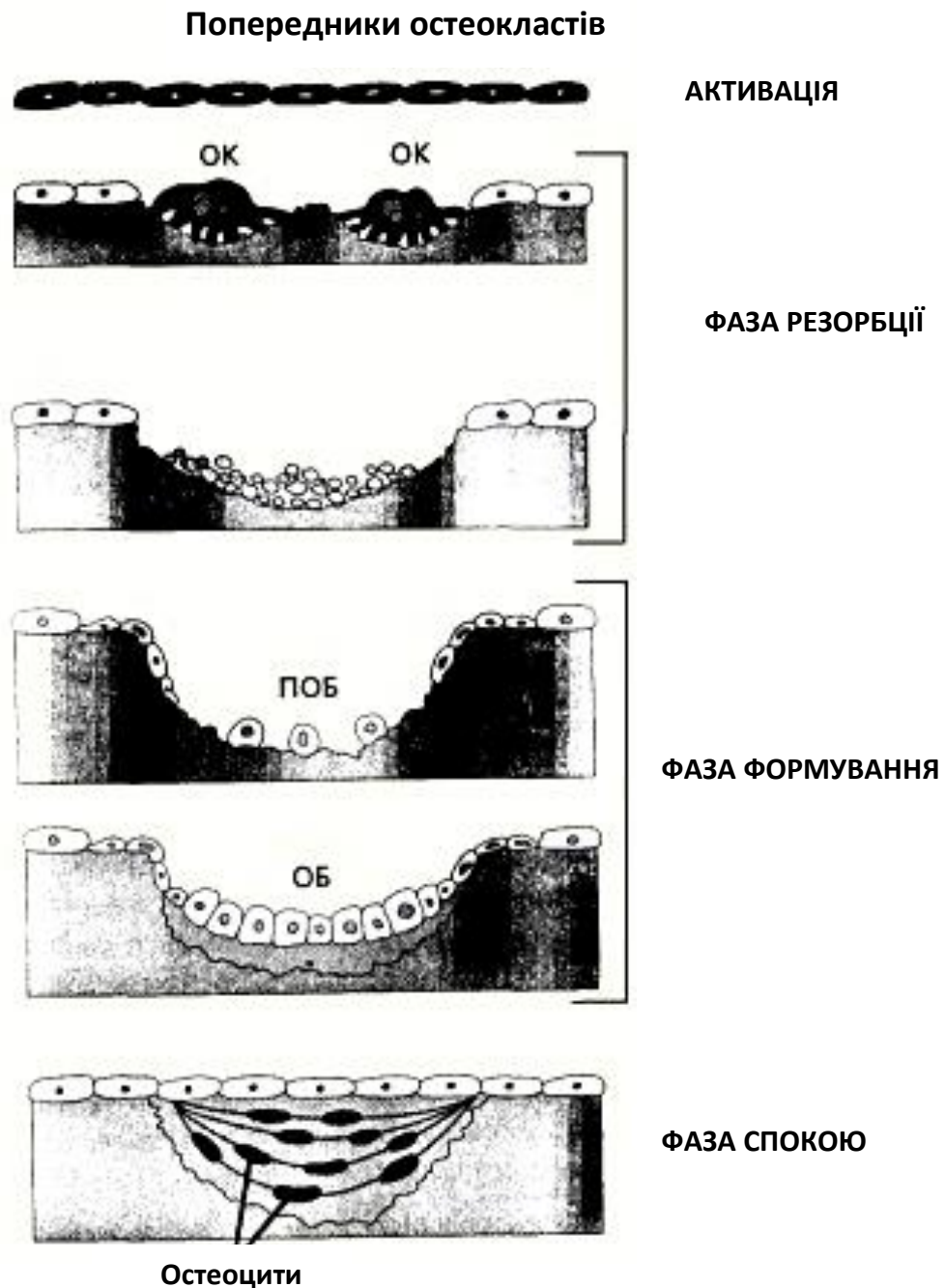


Рис.1.1. Ремоделювання кісткової тканини

ПОБ – незрілі остеобласти

ОБ – остеобласт

ОК – остеокласт

У цих ділянках локально протікають споріднені процеси резорбції та утворення кістки [67, 69]. Активація процесу починається з запуску деяких сигналів-стимулів, за якими остеокласти та інші мононуклеарні клітини мігрують до певної ділянки кісткової тканини і прикріплюються до кісткової пластини. Остеокласти продукують протеолітичні ферменти, лактат, іони водню, які руйнують (гідролізують) білковий матрикс і розчиняють мінеральну частину кістки, при цьому виділяється вільний кальцій та інші компоненти. В результаті такої активності в губчастій кістці утворюються поглиблення до 40 мкм, що мають форму «блюд», а в кортикальній кістці – конусові скляні пустоти діаметром близько 150 мкм і довжиною до 2,5 мм. Тривалість періоду резорбції триває від 27 днів в кортикальному шарі і до 42 днів у губчастій тканині. Цей період резорбції включає в себе і фазу реверсії в кортикальну, тривалістю 4 дня, та 9 днів в губчасту тканину кістки. Фаза реверсії є перехідним періодом, у якому процес резорбції співвідноситься з процесом формування кістки (рис. 1.1).

В період реверсії утворюється цементуюча лінія (або клей), яка з'єднує нову та стару кістку. Цикл ремоделювання завершується фазою формування кістки, яка триває від 95 до 130 днів. Тільки утворена ділянка кісткової тканини носить назву базової структурної одиниці або остеону. Остеобласти утворюють немінералізований органічний матрикс (остеоїд), який через 25-35 днів починає мінералізуватися. Ремоделювання кістки починається ще в пренатальному періоді і триває протягом усього життя. Активність ремоделювання кісткової тканини і швидкість утворення кістки знаходяться на високому рівні до досягнення індивідумом статевої зрілості, потім цей рівень знижується. В середньому до 20-23 років життя досягається пік кісткової маси, яка підтримується на заданому рівні до 30-35 років у жінок, а у чоловіків – трохи більше. В цей період ремоделювання кістки має циклічний рівномірний характер, в якому процеси руйнування та утворення кісток врівноважені, що забезпечує оновлення кістки і збереження кісткової маси, а також підтримує мінеральний обмін. З віком інтенсивність

ремоделювання кісткової тканини різко знижується, це відбувається після 35 років у жінок та 50 років у чоловіків. Резорбція кісткової тканини проходить швидше, ніж утворення кістки, починається поступова втрата маси кістки, що стає причиною вікового зменшення кісткового об'єму і зниження мінеральної щільності кісткової тканини.

Без резорбції кісткової тканини не може утворюватися нова кістка [69, 94]. Процес ремоделювання відбувається одночасно в декількох окремих ділянках скелету, де позаклітинний матрикс послідовно видаляється, а потім замінюється новою тканиною. В цілому, цикл ремоделювання схематично можна зобразити наступним чином: активізація → резорбція → реверсія → формування → стадія спокою (табл. 1.1.)

Таблиця 1.1

Клітини остеогенезу, що беруть участь в процесах ремоделювання

Покривні клітини	Активація, спокій
Остеокласти	Резорбція
Остеобласти	Формування
Остеоцити	Формування (мінералізація), спокій

Остеокласти і остеобласти беруть участь в процесі ремоделювання кістки, остеоцити та покривні клітини – в обмінних процесах, забезпечують живлення кістки та збереження кальцієвого гомеостазу.

Регулювання процесів ремоделювання кісткової тканини – це складний механізм, який знаходиться під контролем різних системних та локальних факторів [36]. До системних факторів відносяться: кальцій-регулюючі гормони (паратиреоїдний гормон; кальцитонін; активні метаболіти вітаміну D₃ – кальцитріол); системні гормони (статеві гормони – естрогени, андрогени, прогестини, тестостерони, гормони щитоподібної залози – тироксин; глюкокортикоїди; соматотропний гормон; інсулін). Місцеві регулятори представлені ростовими факторами (інсуліноподібні ростові фактори - ІПРФ-1 і ІПРФ-2; ростовий фактор фібробластів;

трансформуючий фактор росту β -ТФР- β і ін.), простагландини (простагландин E_2 -ПГЕ₂), цитокіни (інтерлейкіни - ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-11 та ін.; гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор; фактор некрозу пухлини - ФНП- α , ФНП- β). Одні з цих гормонів та факторів, перш за все, стимулюють кісткову резорбцію, інші проявляють переважно пригнічуючу дію, однак і ті й інші діють за принципом зворотнього зв'язку [96, 103].

Стимулюють кісткову резорбцію:

1. Паратиреоїдний гормон – важливий регулятор кальцієвого обміну і кісткового метаболізму. Його основна дія на кісткову тканину – це стимуляція кісткової резорбції через активацію остеокластів.

2. Глюкокортикоїди в надлишковій кількості проявляють непряму стимулюючу дію на кісткову резорбцію. Вони знижують абсорбцію кальцію в кишечнику і реабсорбцію кальцію в кишках, що призводить до гіпокальціємії, яка за принципом зворотного зв'язку стимулює секрецію паратиреоїдного гормону. Крім того, глюкокортикоїди пригнічують функцію остеобластів і овуляцію клітин попередників остеобластів. При гіперкортицизмі відзначається зниження соматотропної функції гіпофіза та рівня статевих гормонів, що в свою чергу пригнічує процеси утворення кістки.

3. Гормони щитоподібної залози. Тиреоїдні гормони надають як пряму, так і опосередковану дію на активацію кісткового обміну і ремоделювання. Тироксин (Т₄) і трийодтиронін (Т₃) необхідні для нормального росту і розвитку скелету, вони підвищують кількість і активність остеокластів, але також активізують і функцію остеобластів. Перевищення цих гормонів в організмі (як ендогенне, так і екзогенне) призводить до різкої активації процесу резорбції кісткової тканини.

4. Вітамін D – холекальциферол в даний час вважається компонентом гормональної системи і відноситься до гормонів стероїдної групи. Він регулює фосфорно-кальцієвий обмін, бере участь у мінералізації кісткової

тканини і в той же час підтримує гомеостаз кальцію. Біологічна дія активних метаболітів цього вітаміну (кальцитріолу) складається з активізації кісткового обміну, підвищення абсорбції кальцію і фосфору в кишечнику і посилення екскреції кальцію нирками. Спільно з паратиреоїдним гормоном вітамін D стимулює кісткову резорбцію (як остеокластичну резорбцію, так і остеоцитарний остеоліз) за рахунок збільшення кількості остеокластів і активізації диференціації клітин-попередників.

5. Локальні фактори, які посилюють кісткову резорбцію – інтерлейкіни (ІЛ-1, ІЛ-3, ІЛ-6, ІЛ-11), фактори некрозу пухлини (ФНП- α , ФНП- β), гранулоцитарно-макрофагальний стимулюючий фактор, фактор стовбурових клітин і простагландини [27, 29, 44, 47, 51].

Інгубують кісткову резорбцію:

1. Кальцитонін-гіпокальціємічний гормон – продукується С-клітинами щитоподібної залози. Органом-мішенню для нього слугує кісткова тканина, а основною біологічною дією є пригнічення кісткової резорбції. Кальцитонін проявляє дуже потужну пряму інгібуючу дію на остеокластичну активність і формування остеокластів, чим провокує зникнення функціонально-активного «гофрованого краю» клітини. Крім того, він пригнічує розпад колагену. Кальцитонін є функціональним антагоністом паратиреоїдного гормону.

2. Статеві гормони (естрогени, андрогени, прогестини) – впливають на скелет протягом всього життя людини. Вони безпосередньо беруть участь у формуванні скелету і визначають його статеві диморфізми, контролюють досягнення піку кісткової маси та швидкість її подальшого зниження, підтримують мінеральний гомеостаз. В цьому ряду провідну роль відіграють естрогени, що регулюють метаболізм кісткової тканини, як у жінок, так і у чоловіків. Естрогени проявляють пряму дію на всі кісткові клітини таким чином, що рецептори до естрогенів виявляються на всіх типах кісткових кліток. Вони знижують кісткову резорбцію за рахунок усунення активності остеокластів, а також їх диференціювання на ранніх стадіях із клітин попередників. Опосередкована дія естрогенів здійснюється через

пригнічення місцевих резорптивних факторів (IL-1, IL-6, ФНО- α , ГМКФ). Крім того, естрогени володіють захисною дією на кісткову тканину від резорбтивного впливу паратиреоїдного гормону. Дефіцит естрогенів у жінок репродуктивного віку і в період менопаузи є провідним фактором розвитку остеопенії і остеопорозу, в основі яких порушення рівноваги у процесі ремоделювання кісткової тканини, з переважанням темпу резорбції кістки. При цьому також має місце зниження синтезу кальцитріолу, збільшення кількості цитокінів (IL-1, IL-6) і факторів росту (ШФР-I, ШФР-II, ТФР- β і ін.), продукція яких також регулюється естрогенами [94, 98].

Ремоделювання – це сполучення під час процесу локальної резорбції та формування кістки в невеликих блоках за допомогою базової мультиклітинної одиниці, функція якої полягає у підтримці скелетного балансу. Ремоделювання компактної та губчастої речовини кістки розглядається з позиції функціонування основних багатоклітинних одиниць (Basic Multicellular Unit) або кісткових ремоделюючих одиниць (Basic Remodelic Unit). Базові мультиклітинні одиниці формуються в місці перебудови кісткової тканини і являють собою групу з узгоджених функціонуючих клітин, які також називають «перетворюючими блоками» або «виділеними ремоделюючими пакетами» [95, 96].

Базисну мультиклітинну одиницю утворюють остеокласти, остеобласти, активні мезенхімальні клітини та капілярні петлі. Розмір базових мультиклітинних одиниць 0,05-0,1 мм³. Вона має форму циліндра з двома конусоподібними вершинами, в центрі якого проходить кровоносний капіляр, обмежений остеогенними клітинами. Вершина циліндра – ріжучий конус, висланий остеокластами, які руйнують компакту кістку, утворюючи в ній резорбційний канал. Середня частина базисної мультиклітинної одиниці – реверсивна зона, представляє собою резорбційну порожнину, вислану клітинами типу макрофагів та змінюючими їх преостеобластами. Дистальний відділ базисної мультиклітинної одиниці – замикаючий конус, покритий остеобластами, які заповнюють резорбційний канал, концентрично

розміщуючись кістковими пластинами. В організмі дорослої людини одночасно функціонує 100000 – 10000000 базисної мультиклітинної одиниці. Ремоделювання кісткової тканини здійснюється у відповідності з діючими на кістку навантаженнями. Щорічно оновлюється близько 4 – 10 % загального об'єму кісткової маси. Цей процес регулюється кількістю та активністю кісткових клітин.

Процес ремоделювання кісткової тканини відбувається в декількох фазах (активації, резорбції, реверсії, формування), в кожному з яких ведучу роль виконують ті чи інші клітини. Остеокласти та остеобласти, які беруть участь у процесі ремоделювання кісток, остеоцитів та захисних клітин, беруть участь у обмінних процесах, забезпечуючи живлення кістки та збереження кальцієвого гомеостазу [103].

Ремоделювання кістки починається з активації покривних клітин за допомогою специфічних цитокінів. На кістковому матриксі відбувається руйнування захисного шару, до оголеної поверхні мігрують попередники остеокластів, зливаються в багатоядерну структуру – зрілий остеокласт, який демінералізує кістковий матрикс (резорбція, що каталізується за допомогою ферментів карбоангідрази і тартрат-резистентної кислоти фосфатази) з утворенням резорбційних лакун, після чого поступається місцем макрофагам. Макрофаги завершують руйнування органічної матриці міжклітинної речовини кістки і готують поверхню до адгезії остеобластів (реверсія). В подальшому настає реверсивна фаза, коли лакуни, які виникли, заповнюються попередниками та диференціюються в остеобластах («клітинах-будівельниках»). Починається синтез кісткових протеїнів, утворення органічного матриксу, після чого мінералізація, відповідно до нових умов статичного та динамічного навантаження на кістку, завершує цикл ремоделювання. Остеобласти залишаються всередині кісткового матриксу, перетворюючись в остеоцити. Остеобласти, що залишилися на поверхні утвореної кістки, диференціюються в покривні клітини.

Такі цикли виникають приблизно 1 раз у 2-3 роки в кожній одиниці кісткового ремоделювання (остеону) як трабекулярних, так і кортикальних кістках і тривають відповідно близько 100 і 200 днів. У молодих здорових осіб у результаті ремоделювання кісткова маса до 35-40 років залишається постійною. Потім втрата кісткової маси у чоловіків щорічно становить 0,5-2% у рік, у жінок - 2-3%, з переважним прискоренням протягом 5-10 років після менопаузи. Кожен цикл ремоделювання в менопаузі закінчується невеликим зменшенням кісткової маси. Активація ремоделювання в менопаузі призводить до збільшення втрати кісткової тканини.

P. D. Ross (1996) показав, що протягом всього життя жінки втрачають до 35 % кортикальної та до 50 % трабекулярної кістки (для чоловіків відповідно – 25 % і 20 %). Таке зменшення кісткової маси призводить до зниження міцності кістки і, отже, до збільшення ризику переломів. Всі локальні фактори, за виключенням простагландів, мають білкову природу і синтезовані різними типами клітин, що мають мезенхімальне походження. Вони можуть здійснювати місцевий вплив на кісткову тканину, виступаючи як аутокринні та/або паракринні регулятори [96, 97].

Таким чином, ремоделювання кісткової тканини – це складний, інтегрований процес підтримання балансу між резорбцією та утворенням. Процес передбачає, що кількість резорбційної кісткової маси замінюється еквівалентною кількістю нової тканини. Розподіл в процесах ремоделювання відбувається з віком і характеризується поступовим переважанням процесів резорбції над процесами утворення кісткової тканини, що розглядається як природний процес у жінок віком близько 40 років. Негативний баланс кістки становить 0,5-1 % щороку і носить назву «остеопенії, пов'язаної з віком». З настанням менопаузи протягом 5-7 років втрата кісткової маси зростає.

За інтенсивністю обмінних процесів в кістковій тканині розрізняють остеопороз з високим, низьким або нормальним рівнем інтенсивності ремоделювання. Відповідно розрізняють жінок, «нормально», «швидко» або «повільно», втрачаючих кісткову масу в постменопаузі. Жінки, що

«нормально» втрачають кісткову масу, складають близько 75 %, у них втрата кісткової речовини становить 1-2 % на рік. Група «швидко» втрачаючих складають близько 25 % жінок, у них втрата кісткової речовини може бути до 6 % на рік. До цієї групи відносяться більшість молодих жінок після оварієктомії [44, 57, 63, 102].

Кісткова тканина – це динамічна система, в якій постійно відбувається кісткове ремоделювання – протягом усього життя йдуть процеси руйнування старої кістки, утворення нової, що є циклом ремоделювання кісткової тканини.

Кістка – це «люстерко», що відбиває нормальні та патологічні процеси в інших органах, у всьому організмі в цілому. Щорічно перебудовується 2-4 % скелету; за 10 – 20 років поновлюється половина скелету. Кісткове ремоделювання виконує дві функції: здатність модифікувати структурну анатомію тканини так, що навантажені структури максимально підсилювали контроль за гомеостазом мінералів [41]. Пік кісткової маси настає до 25 років. У жінок 30-35 років процес утворення тканини кістки переважає над резорбцією. Через 35 років процес резорбції активізується і в клімактеричному періоді стає переважаючим.

З віком часу, необхідним для завершення кісткового ремоделювання однієї одиниці, збільшується, а число нових кісткових ремоделюючих одиниць, що починають утворюватися в одиницю часу (активність повторень), не забезпечує показника загального кістково-мінерального балансу. Тим не менш, на постійній поверхні завжди зберігається позитивний баланс перебудови кістки, тобто діаметр кістки дещо збільшується. На поверхні гаверсових каналів кісткова перебудова врівноважена, а на ендостальній поверхні домінує (особливо після 50 років життя) негативний баланс, який з віком обумовлює стоншення кортикального шару з внутрішньої сторони та рарефікацію губчастої речовини.

Кісткове ремоделювання – це безперервний процес, в результаті якого відбувається оновлення кісткового матриксу зі швидкістю 25 % на рік. Кожен

цикл ремоделювання поділяють на наступні фази: резорбтивну, перемикання, створення, спокій. За один цикл старі тканини кістки піддаються резорбції під дією остеокластів, а порожнина, яка виникає в результаті резорбції, заповнюється остеобластами, які синтезують новий органічний матрикс кістки. Цей цикл ремоделювання відбувається в різних ділянках кісток кожні 10 секунд, а повний цикл ремоделювання (на кожній ділянці) протікає кілька місяців: фаза резорбції триває 15-30 днів, створення - 80-90, мінералізації - 7-15, спокою - близько 900 днів.

Порушення циклу кісткового ремоделювання на будь-якій стадії приводить до зниження кісткової маси в результаті різних причин:

- підвищена дія остеокластів може викликати утворення більш глибоких лакун, які можуть бути не повністю синтезовані остеобластами;
- може уповільнюватися процес перемикання, при цьому резорбція не буде супроводжуватися формуванням кісткової тканини;
- остеобласти не здатні заповнити навіть лакуни нормальних розмірів.

При сенильному остеопорозі кістка містить багато незавершених гаверсових систем, де остеобластична активність відсутня, залишаються розширені центральні гаверсові канали, мінеральна щільність кісток зменшується [51].

Ключовою ланкою в розвитку остеопорозу в більшості випадків є підвищена резорбція кісткової тканини або зниження утворення кістки, хоча іноді мають місце різні комбінації патологічних проявів у ремоделювання кісткової тканини. Однак при будь-якому патофізіологічному механізмі маса кісток зменшується, досягаючи деякого порогового значення, після якого настає стадія переломів. Швидкість втрати кістки залежить від багатьох факторів. Кістка слугує мінеральним резервом для постачання кальцію, магнію, фосфору [41]. Фосфопротеїни (фосфорини) відіграють фундаментальну роль в процесах мінералізації, відрізняються високим вмістом аспаргінової або глютамінової кислоти та фосфату. Вони відіграють головну роль у процесі мінералізації кісткової тканини. Передбачається, що вільні і, пов'язані з колагеном фосфорини, з'єднуються з великою кількістю

кальцію і, тим самим, підвищують його локальний вміст, через що стимулюється мінералізація кістки і ріст кристалів. Фосфопротеїни та кислі фосфоліпідфосфати утворюють комплекси з кальцієм, що призводить до насичення кальцієм [29]. Після початку кальцифікації подальша мінералізація колагенових фібрил відбувається за фізико-хімічними закономірностями. Підготовці кальцію сприяють фосфопротеїни і протеоліпіді. Первинний продукт мінералізації складається переважно з аморфного фосфату кальцію і може бути різним за складом, а в подальшому перетворюється в добре упорядковані структури. Високоорганізовані структури також мають постійну перебудову.

Запускають процеси кісткового моделювання та ремоделювання в багатоклітинних структурних одиницях біологічні механізми. Більшість клітин бере участь у здійсненні проміжного механізму, завдяки дендритній сигнальній мережі, що забезпечує зв'язок між кістковими клітинами, капілярами та периостом [51].

Конкретних особливостей механізмів резорбції та ремоделювання в тканинах пародонту при запальних процесах в доступній нам літературі не обговорювалися. Поясненню цих питань присвячена дана робота.

1.3. Етіологія, патогенез та лікування запальних захворювань пародонта

Запально-деструктивні захворювання пародонту – одна із найбільш складних і розповсюджених форм патології і є основною причиною втрати зубів дорослого населення [2]. Проведене епідеміологічне дослідження Всесвітньою Організацією Охорони Здоров'я (ВООЗ) в 35 економічно розвинених країнах серед осіб віком 31-44 роки, показали високу – вище 75 % розповсюдженість захворювань пародонту, що свідчить не тільки про високий рівень захворюваності, але і про значне зниження віку пацієнтів, які страждають цією патологією. За даними Е. М. Кузьміной непошкоджений пародонт виявляється тільки у 12 % людей, а в останніх випадках

спостерігаються пошкодження різного ступеня тяжкості: від початкових запальних до тяжких деструктивних змін з втратою зубів. Пародонтит тяжкого ступеня, що призводить до втрати зубів, виявляється у 5-15 % випадків в більшості досліджуваних популяцій [2, 24].

Деякі автори вважають, що хронічний генералізований пародонтит, незважаючи на достатню мономорфність основних клінічних проявів, є етіологічно та патогенетично гетерогенним захворюванням. Захворювання пародонту можуть розвиватися під впливом як місцевих причин (мікроорганізми зубного нальоту, оклюзійна травма та ін.), так і поєднаної дії місцевих і загальних (ендогенних) факторів на фоні змін реактивності організму [19, 27, 28].

Відомо, що на розвиток захворювань пародонту мають вплив такі місцеві фактори, як надмірне споживання м'якої їжі, зменшення секреції слини, нависаючі краї пломб, наявність ортодонтичних апаратів [5], аномальне прикріплення вуздечок губ та язика, дрібний присінок рота, травматичні пошкодження. Негативний вплив на пародонт обумовлюють порушення режиму харчування, гіподинамія, патологія внутрішніх органів і систем, зміни водно-сольового обміну, імунологічні, судинні, гормональні і метаболічні зсуви, хронічна інтоксикація і гіпоксія [7, 10, 12, 60].

У виникненні запального процесу в тканинах пародонту беруть участь мікроорганізми зубної бляшки. Відомо, що в бактеріальній бляшці вегетирують анаеробні мікроорганізми з патогенними властивостями. До них відносять *Actinobacillus*, *Actinomyces comitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Campylobacter rectus*, *Likenella corrodens*, *Streptococcus intermedius*, *Spirochetes* та ін. [11, 62, 63, 68, 72, 74].

Патогенний вплив мікроорганізмів в основному обумовлений їх активною ферментативною діяльністю. Мікробні ферменти здатні підвищувати проникність капілярів, викликати порушення проникності епітеліальної мембрани і проникати в підепітеліальну сполучнотканинну основу слизової оболонки ясна. Колагеназа, гідролізуючи колаген, здатна

руйнувати колаген пародонтальної зв'язки і кісткової тканини альвеолярного відростку. Бактеріальна гіалуронідаза в результаті розщеплення гіалуронової кислоти сприяє руйнуванню епітелію сполучної тканини, фібробластів, розширенню мікросудин, підвищенню проникності їх стінок, посиленню міграції лейкоцитів. Наявність колагенази посилює місцеву дію гіалуронідази. Поряд з цим, протеолітичні ферменти зубної бляшки каталізують утворення високоактивних поліпептидів – кінінів, що викликають основні клінічні симптоми гінгівіту: підвищення проникності капілярів, розвиток набряку, гіперемію та кровоточивість ясен. Деструкція пародонтальних тканин викликається групами протеолітичних та гідролітичних ферментів, які разом з резорбційною діяльністю остеокластів, викликають пошкодження пародонтальних тканин і альвеолярної кістки, а проростання епітелію призводить до утворення зубодесневої кишені [22].

В етіології і патогенезі захворювань пародонту важлива роль належить травматичному перевантаженню тканин пародонту. Всі органи зубощелепної системи знаходяться в тісному взаємозв'язку. Оклюзія, пародонт, скронево-нижньощелепний суглоб, жувальні м'язи, нервова система – основні ланки даної системи. Функціональне перенавантаження тканин пародонту сприяє розвитку патологічних змін з переважанням запальних і дистрофічних процесів. Деструктивно-запальні процеси спостерігаються при аномаліях прикусу (глибоке різцеве перекриття, глибокий, відкритий, прогенетичний, прогнатичний прикус та ін.); при ранній втраті молярів і премолярів; після видалення великої кількості зубів (постекстракційне переміщення зубів); скупченості; неправильно сформованому присінку порожнини рота; нераціональному протезуванню та ін. [5, 27].

Оклюзійні порушення в зубощелепній системі є обтяжливими факторами в розвитку запальних змін в тканинах пародонту, а в ряді випадків оклюзійна травма може слугувати пусковим механізмом для виникнення вогнищевих порушень процесів мікроциркуляції в зв'язковому апараті пародонту. Функціональне перенавантаження супроводжується змінами

гідростатичного тиску крові в судинах крово- і лімфотоку і, як наслідок цього, появою гемо- і лімфостазу, порушенням проникності гістогематичних бар'єрів, периваскулярним набряком, діapedезом формених елементів крові, агрегацією еритроцитів, емболією і, тромбозом судин, що в кінцевому результаті відображається на структурі тканин пародонту [1, 39].

Також причиною захворювань пародонту може слугувати функціональна недостатність (гіпофункція), що є наслідком сучасної цивілізації. Атрофічні процеси розвиваються в результаті прийому ретельно обробленої, м'якої їжі, що позбавляє тканини повноцінного навантаження і сприяє утворенню зубних відкладень, які є причиною запалення маргінального пародонту. Неповноцінне функціональне навантаження знижує резистентність тканин пародонту до зовнішніх дій, таких як мікроорганізми, травма і сприяє відкладенню зубного каменю, зменшенню місцевого кровотоку, що в свою чергу призводить до деструктивних процесів [35].

Загальновідомо, що неправильно поставлені пломби, нависаючі краї коронок, розміщені у країв ясен кламеру протезів є факторами, що сприяють відкладенню залишків їжі та бактерій зубної бляшки. Недостатньо контуровані зуби впливають на механічне подразнення краю ясен, попаданню харчових частинок в борозду ясен, неповне прилягання ясен до поверхні зуба, створюються умови для реалізації мікроорганізмами своїх патогенних властивостей. До факторів, що впливають на розвиток захворювань пародонту можна віднести ротове дихання і бруксизм. При ротовому диханні спостерігається пересушування слизової оболонки ясен, зниження резистентності до інфекційних факторів, зменшення антибактеріальних властивостей рідини ясен та слини. Також підвищується тонус кругового м'язу рота та щічних м'язів, що посилює тиск на пародонт зубів верхньої щелепи і сприяє розвитку деструктивних процесів в ньому. Розвитку запальних процесів сприяє негігієнічний стан порожнини рота. Бруксизм призводить до підвищеної стертості твердих тканин зуба, травми

періодонта, порушення мікроциркуляції і в кінцевому результаті резорбції кісткової тканини.

Згідно сучасних даних, важливу роль у виникненні та розвитку захворювань пародонту відіграють загальні фактори: атеросклероз та його ускладнення, гіпертонічна хвороба, цукровий діабет, ожиріння та ін. [2, 7, 10, 31, 46, 52].

Так, у хворих на генералізований пародонтит в 97 % випадків виявлена патологія внутрішніх органів, що вказує на взаємозв'язок стану тканин пародонту із загальним статусом організму [34, 35, 38, 54].

За даними наукових досліджень серцево-судинні, ендокринні захворювання, патологія печінки, нирок, генетична схильність, порушення статевого дозрівання сприяють прогресуванню запально-дистрофічних процесів в тканинах пародонту, а ступінь пошкодження пародонтального комплексу глибша, чим тяжке та тривале протікання соматичної патології [39].

Слідє відмітити, що вік пацієнта відіграє значну роль в розвитку захворювань пародонту, оскільки збільшується кількість системних захворювань та препаратів, що застосовуються для їх лікування, що призводить до зниження ефективності захисних механізмів у літніх пацієнтів. Зі збільшення віку відбувається зниження щільності кісткової тканини та репаративних властивостей в результаті уповільнення метаболізму [42].

Одним із факторів, що негативно впливає на тканини пародонту є прийом лікарських препаратів, до яких відносять: кортикостероїди, імунодепресанти, гіданоїн, солі важких металів, пероральні протизапідні препарати, циклоспорин [16, 22, 26, 43, 48, 58, 81, 84].

У сучасних літературних джерелах представлені дані, що свідчать про порушення метаболічних порушень в тканинах пародонту, які виникають в результаті ряду екзо- та ендогенних дій і дисфункції ферментативних систем, що викликають порушення кровообігу пародонту. Мікроциркуляція крові відіграє ключову роль в забезпеченні трофіки тканин і компенсаторних

процесів при розвитку запальних та ішемічних пошкоджень тканин пародонту. Органи кровообігу забезпечують тканини пародонту киснем, поживними речовинами, виводять із них продукти життєдіяльності. Але зниження ударного та хвилинного об'єму серця та артеріальна гіпотензія можуть призвести до зниження перфузійного тиску в судинах опорно-тримаючого апарату зуба, і, як наслідок, розвитку в них дистрофічних змін. Останні є причиною зниження резистентності тканин пародонту [59, 61].

Результати наукових досліджень показали, що існує чіткий взаємозв'язок кровопостачання тканин пародонту з реактивністю серцево-судинної системи. Вираженість компенсаторних реакцій з боку останньої знаходиться в зворотній залежності від вираженості компенсаторних реакцій судинного русла пародонту [62, 63, 66].

В загальній клінічній практиці нерідко зустрічаються анемії, як вроджені, так і набуті: апластичні, гемолітичні, залізодефіцитні та ін. Анемічні стани поєднуються із порушеннями зсідання крові, патологією серця, судин, інших органів та систем, що відзначається на стані зубнощелепної системи і, в першу чергу, тканин пародонту [1, 6, 52, 64, 74].

Згідно літературним даним хронічний генералізований пародонтит зустрічається практично у всіх хворих на виразкову хворобу та дванадцятипалої кишки. Патогенез пошкодження тканин пародонту при виразковій хворобі до кінця не вивчений. Однак встановлено, що у хворих на хронічний генералізований пародонтит, особливо важкого та середнього ступеня, розвиваються явища ендотоксикозу, що підтверджується динамікою таких гематологічних показників як лейкоцитарний індекс інтоксикації, гематологічний показник інтоксикації, сорбційна здатність еритроцитів, електрокінетичні властивості ядер клітин букального епітелію та ін.

Спільність іннервації та гуморальної регуляції тканин пародонту та шлунково-кишкового тракту створюють передумови для обтяження протікання патологічних процесів в порожнині рота та шлунку. Запальні зміни в тканинах пародонту та шлунку відбуваються під впливом загальних

факторів агресії: бактеріальної інфекції (зокрема *Helicobacter pylori*), дифузної нейроендокринної системи, генетичних факторів, що обумовлюють розвиток апоптозу. Заслужують уваги свідчення про те, що ерадикація *H. pylori* в шлунку та порожнині рота на фоні його повної санації сприяє не тільки досягненню ремісії, але і відновленню структури слизової оболонки травного тракту (шлунку) протягом 2-3 років. Запальні захворювання пародонту на фоні хронічного гастриту супроводжуються порушенням процесів клітинного оновлення епітеліоцитів ясен, що може бути обумовлено прямим чи опосередкованим впливом серотоніну, мелатоніну, гістаміну і хелікобактерної інфекції на процеси клітинної проліферації [55, 59].

Велика кількість досліджень присвячена вивченню зв'язків захворювань пародонту та ендокринної патології. Були відмічені хвороби пародонту при гіпо- та гіперфункції щитоподібної залози [46], паращитоподібних та статевих залоз. Найбільш детально вивчені зміни пародонту при цукровому діабеті [101]. У хворих на цукровий діабет пародонтит зустрічається практично у 100 % випадків та характеризується агресивним характером протікання. Даний патологічний процес має власну, унікальну морфологічну структуру, що значно відрізняється від запальних захворювань пародонту у осіб без цукрового діабету. При цьому частота та важкість патології знаходиться в прямій кореляційній залежності від порушень вуглеводного обміну [61, 62, 63].

Згідно наукових досліджень, підвищення концентрації глюкози в слині, зубноясневій рідині та зниження саливації (аж до ксеростомії) можуть негативно впливати на характер бактеріальної флори, підвищуючи процес неферментативного глікозилування білків: медіаторів запалення, імуноглобулінів та інших медіаторів імунного захисту, а також клітин, залучених до імунного захисту порожнини рота. Цей процес призводить до зниження імунного захисту. В патогенезу пародонтального синдрому при цукровому діабеті основне значення приділяється ангіопатії пародонту: просвіт судинного русла не зникає, але пошкоджується судинна стінка.

Патоморфологічні зміни судин зводяться до первинного плазматичного пошкодження базальної мембрани мікросудинного русла, а потім призводять до склерозу та гіалінозу стінки. За даними наукових досліджень ці зміни ніякого відношення до запалення не мають. Тому, мікроциркуляторні зміни при цукровому діабеті носять первинний характер [6, 28].

В розвитку пародонтальних захворювань мають значення ксеростомія, пов'язана з прийомом лікарських препаратів (седативні засоби, транквілізатори, нейролептики) при депресивних станах, стресах, гіперкінезії жувальних м'язів (бруксизм), що поєднується з психічним напруженням [5].

Серед системних факторів ризику, що призводять до зниження резистентності організму і створення схильності до виникнення захворювань пародонту, слід відмітити ревматоїдний артрит. Патогенез ревматоїдного артриту відрізняється вираженою гетерогенністю, однак загальноприйнята ключова роль належить поєднаним змінам клітинної та гуморальної ланок імунітету. За результатами проведених наукових досліджень встановлено, що клінічні прояви генералізованого пародонтиту обумовлені формою і варіантом протікання ревматоїдного артриту. Виражені запально-деструктивні зміни в тканинах пародонту, характерні для генералізованого пародонтиту I-II ступеню, II ступінь із загостреним протіканням середнього ступеня тяжкості були виявлені тільки у хворих із системними проявами ревматоїдного артриту. У хворих на генералізований пародонтит, асоційований із суглобовою формою ревматоїдного артриту (серонегативний варіант), переважали клінічні ознаки хронічного протікання, при якому головними були деструктивні процеси в альвеолярній кістці з менш вираженими ознаками запалення в м'яких тканинах пародонту [7].

Велике значення в розвитку захворювань пародонту належить дефіциту вітамінів С, В, А, Е, Д, що впливають на стан його тканин. При дефіциті вітаміну С в організмі пошкоджуються процеси утворення та формування колагенових волокон, тканини розпушуються, підвищується проникність міжклітинної речовини та капілярів, уповільнюється формування кісткової

тканини, знижується стійкість пародонтальних тканин до інфекції. Дефіцит вітаміну А призводить до зниження бар'єрної функції ясен (альтерація краю ясен), сприяючи тим самим її запаленню. Недостатність вітаміну Е сприяє посиленню вільно-радикального пероксидного окиснення ліпідів, утворюються пародонтальні кишень, атрофія кісткової тканини, зміни судинної системи пародонту. Дефіцит вітаміну Д призводить до розвитку остеопорозу, який проявляється у дітей остеопорозом, а у дорослих – остеомалаяцією [7].

Виявлено, що одним із факторів розвитку запальних захворювань пародонту у молоді є дезадаптація до хронічного психоемоційного напруження. Надлишкове вегетативне забезпечення діяльності сприяє виникненню запальних захворювань пародонту, і, як і невротичні риси характеру у цих осіб, є проявом дезадаптації до психоемоційного напруження. У стані емоційного стресу змінюються звички людей, підвищується вживання тютюну, алкоголю, лікарських препаратів, з'являються розлади сну, харчування, погіршується гігієна порожнини рота. Все це значно послаблює захисні сили організму і на цьому фоні легше активізуються місцеві збудники, що сприяють розвитку запалення [10, 18].

Одним із факторів розвитку пародонтиту є куріння, що сприяє більшому ступеню деструкції тканин пародонту та більш повільному загоюванні після проведеного лікування. Поєднання куріння з генетичним фактором IL-1 α підвищує частоту переходу гінгівіту в пародонтит в 3-7 разів. Дія нікотину змінює склад під'ясневої мікрофлори, пригнічує захисні механізми, сприяє елімінації пародонтопатогенів (знижує кількість рідини ясен та слини, пригнічує функції найважливіших клітин захисної системи – нейтрофілів, моноцитів, макрофагів, дендритних клітин). Порушення кровотоку та метаболічні розлади, що супроводжуються анемічними станами, сприяють розвитку та підвищенню агресивності пародонтопатогенної мікрофлори [45, 68, 74, 78, 83].

Із вищезазначеного слідує, що пародонтит знаходиться в тісному зв'язку із загальносоматичною патологією, однак зарубіжними авторами відмічено, що хронічна одонтогенна інфекція є важливим фактором в розвитку соматичної патології. Дослідженнями доведено, що вогнище інфекції в порожнині рота часто асоційоване із патологією внутрішніх органів: хронічним бронхітом та бронхіальною астмою, артралгіями, артеріальною гіпертензією, пошкодженням системи крові та іншими захворюваннями [19, 24, 26, 31, 40].

Патогенну дію стоматогенного вогнища пов'язують з тим, що він є джерелом гетеро- (мікробної, лікарської) та аутоантигенної персистенції, а також обумовлює пригнічуючий та дезорганізуючий вплив на імунну систему. Хронічні вогнища інфекції в порожнині рота призводять до суттєвих імунологічних дисбалансів, постійно відволікаючи на себе імунологічні ресурси та виснажуючи загальний потенціал протиінфекційного захисту, що підвищує число інфекційних вогнищ, що виникають та хронізують цей процес. З іншого боку, порожнина рота у цих хворих стає постійним існуючим джерелом розповсюдження інфекції в нижчерозміщені органи, а також лімфогенно та гематогенно по всьому організму [10, 18, 32].

Між виникненням хронічних вогнищ одонтогенної інфекції та захворювань внутрішніх органів існує глибока патогенна спорідненість, обумовлена взаємними причинно-наслідковими взаємозв'язками, опосередкованими імунологічними дисбалансами, порушенням інтерлейкінової регуляції та неповноцінною неспецифічною резистентністю організму. Виявлені регуляторні зсуви повинні розглядатися як потенційні точки дії додаткових системних лікувально-профілактичних заходів в комплексному лікуванні хворих із поєднаними інфекційно-запальними процесами в порожнині рота та захворюваннями внутрішніх органів.

На теперішній час звернено увагу на роль стоматогенної інфекції в патогенезі захворювань серцево-судинної системи. Так, виявлено, що пародонтит відіграє важливу роль при виникненні та розвитку атеросклерозу.

Таким чином, етіологія, патогенез та лікування захворювань пародонта достатньо складні, багатокомпонентні та до теперішнього часу повністю не розкриті. Серед факторів, що впливають на виникнення та швидкість прогресування хвороб пародонта – дефекти функції поліморфно-ядерних лейкоцитів, недостатні імунологічні реакції, шкідливі звички, різні системні захворювання (шлунково-кишкового тракту, печінки, ендокринопатії), тобто пародонт знаходиться в тісному зв'язку із соматичною патологією. Патогенна дія одонтогенного вогнища обумовлено тим, що він є постійним джерелом мікроорганізмів, пригнічуючи імунну систему людини. Хронічні вогнища інфекції в порожнині рота вносять суттєвий внесок в розвиток імунологічного дисбалансу, збільшується кількість інфекційних вогнищ, які тільки що виникли, та відбувається їх хронізація.

Наведені дані підтверджують актуальність наукових досліджень питань етіології та патогенезу захворювань пародонту, нові знання про які дозволяють підвищити ефективність лікування і профілактики цієї патології.

Список використаних джерел у Розділі 1:

1. Авагимов А. Г., Бондаренко А. Н., Славинский А. А. Функционально-метаболическая активность нейтрофилов крови у больных пародонтитом. Компьютерный анализ клеточного изображения. *Медицинский Вестник Северного Кавказа*. 2016. № 3. С. 44–46.
2. Андруша А. Б. Остеопороз: распространенность, пути формирования, современные методы диагностики. *Врачебная практика*. 2015. № 4. С. 58–62.
3. Антигипоксанты в современной клинической практике / С. В. Оковитый и др. *Клиническая медицина*. 2016. № 9. С. 63–68.
4. Антоненко М. Ю., Симоненко Р. В. Сравнительный анализ эффективности адгезивных методов пролонгированного шинирования подвижных зубов в процессе комплексной реабилитации больных генерализованным пародонтитом. *Современная стоматология*. 2018. № 1. С.

60–64.

5. Антонова И. Н. Роль нарушений психологической адаптации в патогенезе хронических воспалительных заболеваний пародонта у спортсменов. *Институт стоматологии*. 2008. № 39. С. 38–43.

6. Аранович А. М., Трофимова Е. В., Сашенков С. Л. Тромбоцитарный гемостаз при дистракционном остеосинтезе. *Известия Челябинского научного центра*. 2015. № 4 (30). С. 208–211.

7. Ашуров Г. Г., Джураева Ш. Ф., Каримов Б. М. К вопросу о прогрессировании деструктивных явлений в альвеолярном отростке у пациентов с соматическими заболеваниями. *Вестник Ивановской медицинской академии*. 2016. № 2. С. 25–28.

8. Бабенко Г. А., Решеткина Л. П. Применение микроэлементов в медицине. К., 1971. 220 с.

9. Баяхметова А. А., Екешева А. А. Исследование пародонтопатогенной микрофлоры пародонтальных карманов при пародонтите молекулярно-генетическим методом. *Наука и Мир*. 2016. № 3 (31). С. 73–76.

10. Безвужко Е. В., Малко Н. В. Біохімічні показники сироватки крові та гомогенатів ясен у щурів при експериментальному гінгівіті, викликаному комбінованою дією важких металів та дефіцитом фтору та йоду. *Вісник проблем біології і медицини*. 2014. № 3 (2). С. 343–345.

11. Бережна О. Е. Зміни якісного складу мікрофлори порожнини рота у дітей з хронічним катаральним гінгівітом в різних регіонах Полтавської області. *Вісник проблем біології і медицини*. 2014. № 3 (2). С. 346–349.

12. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости : метод. реком. / А. П. Левицкий и др. Одесса, 2010. 16 с.

13. Блашкова С. Л., Василевская Е. М. Современные подходы к профилактике обострений заболеваний пародонта у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Фундаментальные исследования*. 2015. № 1. С. 32–36.

14. Богданов О. В., Костенко В. О. Вплив інгібітора ядерної транслокації

транскрипційного фактора кВ на окисний метаболізм у тканинах пародонта щурів за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2017. № 17 (1). С. 217–219.

15. Богомолец А. А. Патологическая физиология в 2-х томах. Саратов: Госиздат, 2004. Т. 1. 238 с.

16. Быкова Н. И., Одольский А. В., Григорьян В. А. Экспериментальное обоснование применения глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата при заболеваниях пародонта. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2017. № 2. С. 195–198.

17. Василевский С. С., Сиваков А. П. Интегративные функции фасций и соединительной ткани. *Медицинские новости*. 2016. № 4. С. 13–15.

18. Взаимосвязь ассоциаций пародонтопатогенных бактерий и развития гингивита у студентов медицинского вуза при академическом стрессе / М. В. Ющук и др. *Клиническая стоматология*. 2017. № 2 (82). С. 18–24.

19. Взаимосвязь клинических и морфологических изменений с факторами риска развития воспалительных заболеваний пародонтов у лиц молодого возраста / И. Н. Усманова и др. *Клиническая стоматология*. 2017. № 4 (84). С. 34–39.

20. Влияние физиологического донора оксида азота на окислительный метаболизм крови крыс / А. К. Мартусевич и др. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2017. № 5. С. 553–555.

21. Воскресенский О. Н., Ткаченко Е. К. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе пародонтита. *Стоматология*. 2017. № 4. С. 5–10.

22. Гударьян А. А., Струк В. И., Иутумунюк Н. В. Комплексное лечение генерализованного катарального гингивита с предвестниками раннего формирования деструктивных явлений в костных структурах пародонта. *Медичні перспективи*. 2017. № 2 (22). С. 111–118.

23. Грудянов А. И., Макеева М. К., Пятигорская Н. В. Современные представления об этиологии, патогенезе и подходах к лечению эндодонто-

пародонтальных поражений. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2013. № 8. С. 34–36.

24. Денисов А. Б. Слюнные железы. Слюна. Часть 2. Методы моделирования физиологических и патологических процессов. М. : Изд-во РАМН, 2003. 60 с.

25. Диагностическая значимость клинико-функциональных и иммунологических исследований в оценке эффективности комплексной терапии хронического гингивита / Д. А. Доменюк и др. *Институт стоматологии*. 2017. № 1. С. 46–47.

26. Долгих В. Т. Клиническая патофизиология для стоматолога. Н. Новгород : Изд-во НГМА, 2000. 195 с.

27. Доманова Е. Т., Зобнин В. В., Соловьев С. Н. Нарушения гемостаза при хронических заболеваниях пародонта. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2017. № 55 (1). С. 114–117.

28. Елинская А.Н., Денисенко С.В., Костенко В.А. Влияние ингибитора транскрипционного фактора Каппа на деполимеризацию биополимеров соединительной ткани пародонта крыс при системном воспалительном ответе. *Мир медицины и биологии*. 2020. №1 (71). С.180-183.

29. Жилиев Е. В., Глазунов А. В., Глазунов П. А. Клиническое значение и нарушение кальциевого обмена. *Клиническая медицина*. 2016. № 4. С. 13–17.

30. Журавлев А. И., Зубкова С. М. Антиоксиданты. Свободнорадикальная патология. М. : МГАВМ и Б им. К. И. Скрябина, 2018. 272 с.

31. Ильин В.К., Царев В.Н., Скедина М.А. Состояние барьеров микробной колонизации зубочелюстной системы в условиях имитированной невесомости. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2020. Т.64. № 1. С. 76-83.

32. Иммунные нарушения на системном и локальном уровнях при хроническом периодонтите, взаимосвязь с оксидантными изменениями / Д. Д. Голдбин и др. *Иммунология*. 2017. № 1. С. 35–39.

33. Исследование местного иммунитета полости рта у пациентов с

несъемными эстетическими ортопедическими конструкциями и воспалительными заболеваниями пародонта / И. Р. Шафеев и др. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2016. № 2 (62). С. 23–26.

34. Капранова В. В., Асадов Р. И., Дорохова В. Д. Роль генетических полиморфизмов в развитии пародонтита. *Научный альманах*. 2017. № 2-3 (28). С. 347–350.

35. Ким Л. Б. Соединительная ткань и заболевания человека. *Вестник Новосибирского Государственного Университета*. 2017. № 2 (6). С. 160–164.

36. Ким Л. Б. Соединительная ткань и проблема социально значимых заболеваний человека. *Вестник Новосибирского Государственного Университета*. 2018. № 1 (8). С. 162–170.

37. Ковалева И. А., Богданов А. В., Хмиль Д. А. Роль пероксинитрита в процессах деполимеризации коллагена и протеогликанов в костях и коже крыс при сочетанном введении в организм нитрата и фторида натрия. *Человек и здоровье : материалы XIX междунар. мед.-биолог. конф. молодых исследователей*. СПб., 2016. С. 273–274.

38. Конопля А. И., Голдобин Д. Д., Локтионов А. Л. Местный иммунный и оксидантный статус при хроническом периодонтите в стадии обострения. *Стоматология*. 2017. № 3. С. 26–29.

39. Кушлинский Н. Е., Тимофеев Ю. А., Герштейн Е. С. Система RANK/RANKL/OPG при метастазах и первичных новообразованиях костей. *Молекулярная медицина*. 2013. № 6. С. 3–10.

40. Літовка І. Г., Березовський В. Я. Вплив магнію на ремоделювання кісткової тканини. *Фізіологічний журнал*. 2018. Т. 64, № 3. С. 91–99.

41. Мазуров В. И. Биохимия коллагеновых белков. М., 1994. 225 с.

42. Максимова Н. В. Результат лечения воспалительных процессов краевого пародонта с использованием диодного лазера перед ортопедической реабилитацией. *Казанский медицинский журнал*. 2017. № 4. С. 628–631.

43. Машейко И. В. Биохимические маркеры в оценке процессов ремоделирования костной ткани при остеопении и остеопорозе. *Журнал*

Гредненского государственного медицинского ун-та. 2017. № 2. С. 149–153.

44. Михайлова Е. С. Особенности микробиоты пародонтальных карманов у курящих пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017. № 2. С. 107–111.

45. Московский А.В., Леженина С.В., Уруков Ю.Н. Морфофункциональное состояние биоаминсодержащих структур пульпы зуба при сочетанной патологии. *Современные проблемы науки и образования.* 2020. № 2. С. 167-171.

46. Нуруллина Г. М., Ахмадуллина Т. М. Костное ремоделирование в норме и при первичном остеопорозе : значение маркеров костного ремоделирования. *The Russian Archives of Internal Medicina.* 2018. № 2. С. 100–110.

47. Пахолюк Ю.П., Михайлюк Е.В., Фомина А.В. Роль дисплазии соединительной ткани в рецидивировании грыж передней брюшной стенки. *Современные проблемы науки и образования.* 2020. № 1. С.87-90.

48. Пиндус Т. А., Деньга А. Э., Ткаченко Е. К. Влияние на состояние тканей пародонта крыс хронической недостаточности в рационе питания биоантиоксидантов при дополнительном патогенном локальном воздействии. *Інновації в стоматології.* 2017. Т. 3-4, № 16. С. 2–5.

49. Порущення регуляторних механізмів ремодельовання кісткової тканини в умовах експериментальної хронічної хвороби нирок / С. Б. Павлов та ін. *Фізіологічний журнал.* 2016. № 3 (62). С. 54–59.

50. Pupin T.I., Nemesh O.M., Honta Z.M. Современные аспекты лечения генерализованного пародонтита у больных с соматической патологией. *Запорожский медицинский журнал.* 2020. Т. 22. № 1 (118). С. 122-128.

51. Роль мезенхимальных мультипотентных стромальных клеток в ремоделировании костной ткани / М. В. Киселевский и др. *Медицинская иммунология.* 2018. № 4 (20). С. 515–522.

52. Руманова А. И., Жданова Е. В., Корнеева М. В. Характеристика

лейкограммы крови десны при генерализованном пародонтите. *Здоровье и образование в XXI веке*. 2016. № 4. С. 40–43.

53. Румянцев В. А., Заклязыминская Е. А. Клиническое и генетическое разнообразие наследственных дисплазий соединительной ткани. *Клиническая и экспериментальная хирургия*. 2015. № 2. С. 5–17.

54. Саакян Э. С., Журбенко В. А. Индивидуальная профилактика заболеваний пародонта. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2017. № 3–4. С. 616.

55. Свободнорадикальные процессы и воспаление (патогенетические, клинические и терапевтические аспекты) / Т. В. Сологуб и др. М. : Академия естествознания, 2018. 95 с.

56. Серов В. В., Шехтер А. Б. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология). М. : Медицина. 1981. 312 с.

57. Современные аспекты этиологии и патогенеза пародонтита / М. С. Алиева и др. *Известия Дагестанского государственного педагогического университета. Естественные и точные науки*. 2013. № 1 (22). С. 25–29.

58. Сравнительная оценка эффективности средств для лечения альвеолита / А. К. Иорданишвили и др. *Институт стоматологии ООО «Медиздательство»*. 2017. № 74 (1). С. 51–53.

59. Страка М. Пародонтология 2015. *Новое в стоматологии*. 2015ю № 4. С. 24–54.

60. Субанова А. А. Особенности эпидемиологии и патогенеза заболеваний пародонта (обзор литературы). *Вестник Кыргызско-Российского славянского университета*. 2015. № 15 (7). С. 152–155.

61. Сукманський О. І., Горохівський В. Н., Шухтіна І. Н. Нові адипокини і метаболічний синдром. Стоматологічні аспекти. *Інновації в стоматології*. 2017. Т. 1, № 15. С. 15–20.

62. Цепов Л. М., Цепова Е. Л., Цепов А. Л. Пародонтит: локальний очаг серйозних проблем (обзор литературы). *Пародонтология*. 2014. № 19 (3). С. 3–6.

63. Чурилов Л. П., Дубова М. А., Каспина А. И. Механизмы развития стоматологических заболеваний. СПб. : «ЭЛБИ-СПб», 2016. 534 с.
64. Экзогенный фиброзирующий альвеолит у плавильщиков цинковых сплавов / Н. К. Вознесенский и др. *Медицина труда и промышленная экология*. 2017. № 6. С. 52–56.
65. Al-Rasheed A. Elevation of white blood cells and platelet counts in patients having chronic periodontitis. *Saudi Dent J*. 2012. Vol. 24, №. 1. P. 17–21.
66. Armitage G. C. Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. *Periodontology*. 2016. №. 34. P. 109–119.
67. Bellido T. Osteocyte-driven bone remodeling. *Calcif. Tissue Int*. 2014. Vol. 1, №. 3. P. 25–34.
68. Berglundh T., Wellfelt B., Liljenberg B. Some local and systematic immunological features of prepubertal periodontitis. *J. Clin. Periodontol*. 2018. №. 28. P. 113–120.
69. Bonnans C., Chou J., Werb Z. Remodeling the extracellular matrix in development and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2014. Vol. 15, №. 12. P. 786–801.
70. Chang S. W., Buehler M. J. Molecular biomechanics of collagen molecules. *Materials Today*. 2014. Vol. 17, №. 2. P. 70–76.
71. Collagen and health disease / S. V. Sandhu et al. *Journal of Orofacial Research*. 2017. Vol. 2, №. 3. P. 153–159.
72. Comparative molecular analysis of bacterial species associated with periodontal diseases / V. De Luliis et al. *Biol. Regul. Homeost. Agents*. 2016. Vol. 30, №. 4. P. 1209–1215.
73. Dekina S. S. Isolation and purification of lysozyme from the hen egg white. *Biotechnologia Acta*. 2015. Vol. 8, №. 6. P. 41–47.
74. Demographic, clinical and microbial aspects of chronic and aggressive periodontitis in Colombia / G. I. Lafaurie et al. *Periodontol*. 2017. Vol. 78, №. 4. P. 629–739.
75. Elevated level of macrophage colony-stimulating factor in human fracture

healing / K. Sarahrudi et al. *J. Orthoped. Res.* 2017. Vol. 28, №. 5. P. 671–676.

76. Foey A. D. Macrophages – masters of immune activation, suppression and deviation / edited by G. H. T. Duc. Publisher: InTech, 2014. 274 p.

77. Garlet G. P. Destructive and Protective Roles of Cytokines in Periodontitis: A Reappraisal from Host Defense and Tissue Destruction Viewpoints. *J. Dent Res.* 2017. Vol. 89, №. 12. P. 1349–1363.

78. Genotype variation and capsular serotypes of *Porphyromonas gingivalis* from chronic periodontitis and periodontal abscesses / T. Yoshi et al. *FEMS Microbiol Lett.* 2017. Vol. 270, №. 75. P. 75–81.

79. Glycosaminoglycans and mucopolysaccharidosis type III / J. Jabobkiewicz-Banecka et al. *Front Biosci.* 2016. Vol. 21. P. 1393–1409.

80. Gordon M. K., Hahn R. A. Collagens. *Cell Tissue Res.* 2010. Vol. 339, №. 1. P. 247–257.

81. Hakeda Y. Action of glucocorticoid on bone formatting and bone resorbing cells. *Clin. Calcium.* 2016. Vol. 16, №. 11. P. 1817–1822.

82. Heterogeneity of collagen VI microfibrils: structural analysis of non-collagenous regions / T. Maab et al. *J. Biol. Chem.* 2016. Vol. 291, №. 10. P. 5247–5248.

83. Ishihara K. Virulence mechanisms of periodontopathic bacteria and responses. *Bull. Tokyo Dent. Coll.* 2017. Vol. 42, №. 2. P. 105–108.

84. Jimi E., Fukushima H. NF- κ B signaling pathways and the future perspectives of the bone disease therapy using selective inhibitors of NF- κ B. *Clin. Calcium.* 2016. Vol. 26, №. 2. P. 298–304.

85. Jun H. K., Jung Y. J., Choi B. K. *Treponemadenticola*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Tannerella forsythia* induce cell death and release of endogenous danger signals. *Arch. Oral Biol.* 2017. Vol. 73. P. 72–78.

86. Kaur G., Mohindra K., Singla S. Autoimmunity-Basics and link with periodontal disease. *Autoimmun. Rev.* 2017. Vol. 16, №. 1. P. 64–71.

87. Kindlova M. Age-dependent change in the rat periodontium. *J. Periodontal. Res.* 2018. Vol. 16. P. 497–503.

88. Konopka T., Krol K., Kopec W. Total antioxidant status and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in gingival and peripheral blood of periodontitis patients. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2017. Vol. 55, №. 6. P. 417–422.
89. Kornman K. S. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *Periodontology*. 2018. Vol. 79, №. 8. P. 1560–1568.
90. LGR4 is a receptor for RANKL and negatively regulates osteoclast differentiation and bone resorption / Jian Luo et al. *Nature Medicine*. 2016. Vol. 22, №. 5. P. 539–546.
91. Lin S., Qiu M., Chen J. Modulates Macrophage Polarization in Ankylosing Spondylitis. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2015. Vol. 35, №. 6. P. 2213–2222.
92. Micromolar sodium fluoride mediates anti-osteoclastogenesis in Porphyromonas gingivalis-induced alveolar bone loss / U. K. Bhawal et al. *Int. J. Oral Sci.* 2015. Vol. 7, №. 4. P. 242–249.
93. Minimally invasive flap surgery and enamel matrix derivative in the treatment of localized aggressive periodontitis: case report / D. Kaner et al. *Int J. Periodontics Restorative Dent.* 2018. Vol. 29, №. 6. P. 89–97.
94. Nakashima T., Hayash M., Takayanagi H. Regulation of bone resorption by osteocytes. *Clin. Calcium*. 2018. Vol. 22, №. 1. P. 432–440.
95. New insights into the mechanism of fibroblast to myofibroblast transformation and associated pathologies / M. A. Watsky et al. *International Review of Cell and Molecular Biology*. 2016. Vol. 282. P. 165–192.
96. Nurden A. T. Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thromb. Haemost.* 2017. Vol. 105, №. 1. P. 13–33.
97. Omelyanenko N. P., Slutsky L. I., Mironov S. P. Connective Tissue: Histophysiology, Biochemistry, Molecular Biology. London. CRC Press, 2016. 638 p.
98. Palmqvist P., Lundberg P., Persson E. Inhibition of hormone cytokine-stimulated osteoclastogenesis and bone resorption by interleukin-4 and interleukin-13 is associated with increased osteoprotegerin and decreased RANKL and RANK

in a STAT6-dependent pathway. *Biological Chemistry*. 2016. №. 281. P. 2414–2429.

99. Patton K. T. *Anatomy and Physiology*. London: Elsevier Health Sciences, 2015. 1264 p.

100. Peng Li, Guoyao Wu. Roles of dietary glycine, proline and hydroxyproline in collagen synthesis and animal growth. *Amino Acids*. 2017. Vol. 50, №. 4. P. 1–10.

101. Periodontal disease in diabetic patients – clinical and histopathological aspects / D. CorlanPuscu et al. *Rom. J. MorpholEmbryol*. 2016. Vol. 57, №. 4. P. 1323–1329.

102. Razzouk S. Regulatory elements and genetic variations in periodontal disease. *Arch Oral Biol*. 2016. Vol. 72. P. 106–115.

103. Role of interleukin-6 in regulation of immune responses to remodeling after myocardial infarction / M. Huang et al. *Heart Fail. Rev*. 2015. Vol. 20, №. 1. P. 25–38.

104. Salamon A., Toldy E. Role of fibroblasts in physiologic, reparative and pathologic processes. *Orvosi Hetilap*. 2017. Vol. 148, №. 36. P. 1683–1690.

105. Zaitseva O. V., Shandrenko S. G., Veliky M. M. Biochemical markers of bone collagen type I metabolism. *Ukr. Biochem. J*. 2015. Vol. 87, №. 1. P. 21–32.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальні дослідження виконані на 250 білих нелінійних щурах (240 самцях та 10 самицях) масою від 240,0 до 360,0 г та 10 кролях породи Шиншила масою 2,5–3,0 кг, вирощених у розпліднику віварію ЦНДЛ НФаУ.

Усі процедури з тваринами, а також виведення тварин з експерименту проводили відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджуються з положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986), Гельсінською декларацією, прийнятою Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964-2000 рр.), Статусом Української асоціації з біоетики й нормами GCP (1992 р.), відповідно до вимог та норм ICH GLP (2002 р.), типових положень з питань етики МОЗ України № 66 від 13.02.2003 (протокол засідання Комісії з біоетики НФаУ № 2 від 17.02.2016 р.) [9].

Розподіл тварин за серіями експериментів приведено в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Розподіл тварин за серіями експерименту

№	Серія експериментів	Кількість та вид тварин
1	2	3
1.	Створення моделі експериментального запалення шкіри щурів під впливом розчину скипидару	40 білих нелінійних щурів-самців
2.	Створення глюкокортикоїдної моделі пародонтиту на кролях за методом Kantarci A. та співав.	10 кролів породи Шиншила масою 2,5 – 3,0 кг

Прод.табл.2.1

1	2	3
3.	Створення моделі пародонтиту у щурів-самців за методом Євдокимова О. І. в модифікації Сукманського О.І. та Макаренко О. А.	50 білих нелінійних щурів-самців
4.	Створення моделі гінгівіту за методом Левицького А. П. та спіавт.	40 білих нелінійних щурів-самців
5.	Створення моделі альвеоліту нижньої щелепи у щурів за методом Черемісіної В. Ф. та спіавт.	30 білих нелінійних щурів-самців
6.	Вивчення впливу гормонів на стан тканин пародонта	10 білих нелінійних щурів-самиць
7.	Вивчення впливу паратиреоїдного гормону та кальцитоніну	20 білих нелінійних щурів-самців
8.	Вивчення ролі мікроелементів в механізмах резорбції та ремоделювання тканин пародонта	20 білих нелінійних щурів-самців
9.	Контрольна група щурів	40 білих нелінійних щурів-самців
Всього тварин		250 білих нелінійних щурів (240 самців та 10 самиць) та 10 кролів породи Шиншила

Всі больові маніпуляції були проведені під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг внутрішньоочеревинно) [10].

Експериментальні моделі

Традиційно для експериментального відтворення гнійного чи асептичного запалення використовують різні хімічні подразнюючі агенти – скипидар, кротонове масло, формалін та інші, а також інертні речовини -

каолін, вату, пластик, дерево, скло. Ексудативне запалення моделюють за допомогою декстрану і каррагініну. Щоб уникнути подальшої присутності флогогенного агента в осередку, застосовують моделі термічного або променевого запалення. Крім того, існує цілий ряд моделей інфекційного запалення

Нами було обрано *скипидарне запалення* як легко відтворюване, точнодозуюче і безпечне для персоналу класична модель гострого локального асептичного запалення з вираженою клітинною реакцією. Запалення викликали одноразовим введенням 0,5 мл скипидару під шкіру спини. Тварин виводили з експерименту через 6 год (n=10) і дві доби (n=10) після введення скипидару [2].

Експериментальний пародонтит на кролях породи Шиншила відтворювали шляхом щоденної ін'єкції 0,2 мл гідрокортизону (Гідрокортизону ацетат, суспензія для ін'єкцій 2,5 %) в проміжок між різцями нижньої щелепи до прояву вираженої клініки пародонтиту. Тварин оглядали щоденно, звертаючи увагу на загальну рухливість, апетит, масу тіла, виділення із носу, слинотечу, рухливість нижніх різців [19].

Експериментальний пародонтит у щурів викликали шляхом використання дієти легкої консистенції з високим вмістом вуглеводів за О.І. Євдокимовим у модифікації О. І. Сукманського та О. А. Макаренко [17]. Склад цієї дієти наступний: пшеничне борошно – 34%, сухе знежирене коров'яче молоко –30%, крохмаль – 20%, цукор – 15%, поварена сіль – 1%. Для прискорення моделювання додатково до раціону харчування щурів додавали переокиснену соняшникову олію (1 мл на одного щура), яку отримували шляхом її нагрівання у присутності 2% сульфату міді протягом 6-10 годин до досягнення перекисного числа вище 30 од.

Гінгівіт відтворювали в два етапи: попереднім створенням дисбактеріозу в ротовій порожнині (внутрішньошлункове введення лінкоміцину дозою 60 мг/кг протягом 5 днів) та подальшим локальним ураженням ясен та тканин присінку рота аплікаціями суспензії бджолої

отрути (1 мг/кг в дозі 2 мл) [13].

Альвеоліт моделювали за методом Черемісіної В. Ф. та співавт. [12].

Методики дослідження

Про стан системи ПОЛ та АОС свідчили за концентрацією МДА, активністю церулоплазміну, каталази в сироватці крові і гомогенаті тканини ясен та антиоксидантно-прооксидантним індексом (АПІ) який розраховували як відношення активності каталази до концентрації МДА [3, 5, 15, 16].

Гомогенати тканин отримували шляхом центрифугування у центрифугу РС-6 при 3000 об/хв протягом 15 хв при температурі +4°C.

Для оцінки системи ПОЛ і активності ферментів антиоксидантного захисту використовували методи спектрофотометрії на двоохпроменевому спектрофотометрі «Specord UV VIS» (Німеччина, 1999 р).

Концентрацію МДА визначали за ТБК-методом [16]. Принцип методу полягає в утворенні забарвленого комплексу при взаємодії малонового діальдегіду з тіобарбітуровою кислотою.

Реактиви: 1) розчин трихлороцтової кислоти, 170 г/л; 2) розчин 2-тіобарбітурової кислоти, 8 г/л; 3) розчин хлориду натрію ізотонічного, 0,15 моль/л (9 г/л).

Хід роботи: для дослідження 0,1 мл еритроцитів триразово вимивали охолодженим ізотонічним розчином, гемолізували внесенням до пробірки 2,0 мл дистильованої води. До отриманого гемолізату додавали 1,0 мл розчину трихлороцтової кислоти і 1,0 мл розчину тіобарбітурової кислоти. Пробу прогрівали в кип'ячій водяній бані протягом 10 хв, потім центрифугували 10 хв при 3000 об/хв. на центрифугу типу ОПН-3. Інтенсивність забарвлення виміряли при довжині хвилі 540 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною шару 1 см.

Підрахунки проводили за формулою 2.1:

$$C \text{ (кмоль/л)} = A_{\text{оп}} \frac{10^6 \times 4 \text{ (мл)}}{1,56 \times 10^5 \times 0,1 \text{ (мл)}} \quad (2.1),$$

де 4 мл – об'єм водної фази;

0,1 мл – об'єм еритроцитарної маси;

10^6 – коефіцієнт переводу ммоль/л в кмоль/л;

$1,56 \times 10^5$ – коефіцієнт молярної екстинції.

Рівень церулоплазміну в сироватці крові досліджували за методом Равіна з використанням у якості субстрату парафенілендіаміну [3]. Принцип методу базується на окисненні парафенілендіаміну за участю церулоплазміну. Ферментативна реакція припиняється додаванням фториду натрію. За оптичною щільністю продуктів, що утворилися, судили про рівень церулоплазміну.

Використані реактиви: 1) водний розчин солянокислого р-фенілендіаміну, 5 г/л; 2) ацетатний буфер (рН 5,5) отримували з розчинів «а» - 54,44 г ацетату натрію + дистильованої води до 1 л і «б»- 22,6 мл крижаної оцтової кислоти + дистильованої води до 1 л. Розчини «а» і «б» змішували у співвідношенні 9:1; 3) розчин фтористого натрію, 30 г/л. Після розчинення солі в дистильованій воді розчин профільтровували.

Хід роботи: для визначення рівня церулоплазміну в пробірки вносили по 0,1 мл сироватки. В одну з пробірок, яка служувала контролем, додавали 2,0 мл розчину фториду натрію (з метою інактивації ферментативної активності церулоплазміну). Потім в усі пробірки додавали по 8,0 мл ацетатного буферу і по 1,0 мл розчину р-фенілендіаміну (в якості субстрату). Пробірки струшували і ставили на 1 годину на водяну баню з температурою $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Після інкубації в усі пробірки, за винятком контрольної, доливали по 2,0 мл розчину фториду натрію. Вміст пробірок перемішували і переносили в холодильник, де тримали протягом 30 хв при $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Проби колориметрували на ФЕКу з зеленим світлофільтром (530 нм). Результат фотометрії оцінювали з урахуванням оптичної щільності контрольної проби (світло-рожевого кольору). Помножуючи отримані значення абсорбції на коефіцієнт 875, знаходили величину концентрації церулоплазміну в мг/л.

Активність каталази встановлювали за зменшенням вмісту перекису водню в інкубаційному середовищі, оскільки каталаза розщеплює перекис водню [1]. Відмиті еритроцити гемолізували 0,05 М буфером трис-НСІ (рН 7,4) в співвідношенні 1:10. 0,02 мл гемолізованих еритроцитів змішували з 4 мл дистильованої води (розбавлення 1:2000), додавали одну краплю 96% етилового спирту та залишали на 12 год. В інкубаційну суміш, яка містила 0,1 мл 0,05 М буферу трис-НСІ (рН 7,4) і 0,04 мл гемолізованих еритроцитів (розведення 1:2000), вносили 1,8 мл дистильованої води (контроль) або 1,8 мл 10 мМ розчину H_2O_2 (дослід). Зниження оптичної щільності в результаті розщеплення перекису водню в дослідній пробі вимірювали в порівнянні з контролем кожні 30 с протягом 3 хв при кімнатній температурі при довжині хвилі 230 нм. При розрахунку активності використовували середнє значення зміни оптичної щільності за кожену хвилину протягом 3 хв, за формулою 2.9:

$$A = \frac{E_{\text{ср}}}{0,071} \quad (2.2),$$

де A – кількість ммоль H_2O_2 , розщепленого в середньому за 1 хв при додаванні в інкубаційну суміш 0,04 мл гемолізату еритроцитів (1:2000);
 $E_{\text{ср}}$ – середнє значення оптичної щільності, розраховане за 1 хв.; 0,071 – коефіцієнт молярної екстинкції H_2O_2 .

Про активність каталази в гемолізаті еритроцитів робили висновок за зменшенням вмісту перекису водню за 1 хв, виражали в міжнародних одиницях – ммоль H_2O_2 /хв $\times 10^4$ та перераховували на 1 мл еритроцитарної завіси або 1 г гемоглобіну.

Кислотно-лужний стан крові вивчали мікрометодом Аструпа з використанням номограм Зиггарда-Андерсена [20]. Показники кислотно-лужного стану крові визначали на апараті «Аструп» (Данія). Кров з сонної артерії експериментальних щурів забирали у 3 гепаринізовані капіляри. В одному з них вимірювали рН, два інших розміщували в еквалібраційну

камеру і насичували сумішшю кисню і вуглекислоти з відомим вмістом газів. Після еквалібрації вимірювали рН у цих двох пробах. Отримані дані відкладали на номограмі і визначали напругу вуглекислого газу ($p\text{CO}_2$) і кисню ($p\text{O}_2$) у мм рт.ст.

Інтерлейкін-1 β (IL-1 β) визначали по набору реагентів «Інтерлейкін-1 β -ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) для імуноферментного визначення концентрації IL-1 β в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до IL-1 β . Набір розрахований на визначення в діапазоні концентрації 0 - 250 пг/мл. Мінімальна достовірно визначаєма набором концентрація не перевищує 1 пг/мл.

Інтерлейкін-1RA (IL-1RA) досліджували по набору реагентів «РА Інтерлейкіну-1-ІФА-БЕСТ (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до IL-1RA. Діапазон вимірюваних концентрацій 0 - 3000 пг/мл, чутливість аналізу 10 пг/мл.

Інтерлейкін-2 (IL-2) встановлювали по набору реагентів ProCon IL-2 (Росія), призначеному для кількісного визначення IL-2 в біологічних рідинах в інтервалі концентрацій 0-1000 пг/мл. Метод визначення заснований на твердофазному імуноферментному аналізі із застосуванням пероксидази хрому в якості індикаторного ферменту. Один тип антитіл мобілізують на внутрішніх поверхнях лунок. Інший тип антитіл - поліклональні антитіла до молекули IL-2, знаходяться в наборі у вигляді розчину. Індикаторним компонентом є кон'югат пероксидази хрому з антивидовими поліклональними антитілами. Після інкубацій і промивок в лунки вносили кон'югат пероксидази, знову інкубували, промивали, вносили субстрат і вимірювали активність зв'язаної пероксидази з використанням автоматичного фотометра для мікропланшетів при 450 нм.

Інтерлейкін-4 (ІЛ-4) характеризували по набору реагентів «Інтерлейкін-4- ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до ІЛ-4. Діапазон вимірюваних концентрацій 0 - 400 пг/мл, чутливість аналізу 2 пг/мл.

Інтерлейкін-6 (ІЛ-6) досліджували по набору реагентів «Інтерлейкін-6-ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до ІЛ-6. Діапазон вимірюваних концентрацій 0 - 300 пг/мл, чутливість аналізу 0,5 пг/мл.

Інтерлейкін-8 (ІЛ-8) встановлювали по набору реагентів «Інтерлейкін-8-ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до ІЛ-8. Діапазон вимірюваних концентрацій 0 - 250 пг/мл, чутливість аналізу 2 пг/мл.

Інтерлейкін-10 (ІЛ-10) визначали по набору реагентів «Інтерлейкін-10-ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до ІЛ-10. Діапазон вимірюваних концентрацій 0 - 500 пг/мл, чутливість аналізу 1 пг/мл.

Інтерлейкін-17 (ІЛ-17) досліджували по набору реагентів «Інтерлейкін-17-ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до ІЛ-17. Діапазон вимірюваних концентрацій 0 - 500 пг/мл, чутливість аналізу 2 пг/мл.

Фактор некрозу пухлини (TNF- α) характеризували по набору «альфа-ФНП-ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія). Набір призначений для кількісного визначення TNF- α в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод визначення заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до TNF- α . Діапазон вимірюваних концентрацій 0 - 250 пг/мл. Мінімально визначаєма концентрація не перевищує 2 пг/мл. На першій стадії аналізу досліджувані і контрольні зразки інкубували в лунках з іммобілізованими антитілами. Наявні в зразках інтерлейкіни зв'язувалися з іммобілізованими антитілами. Матеріал, який не зв'язався, видаляли відмиванням. Зв'язавшийся інтерлейкін взаємодіяв при інкубації з кон'югатом № 1 (антитіла до будь-якого з інтерлейкінів з біотином). Незв'язавшийся кон'югат видаляли відмиванням. На третій стадії зв'язавшийся кон'югат № 1 взаємодіяв при інкубації з кон'югатом № 2 (стрептавідин з пероксидазою хрому). Після третього відмивання кількість зв'язавшогося кон'югата № 2 визначали кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази хрому - перекису водню і хромогена - тетраметілбензидина. Реакцію зупиняли додаванням стоп-реагенту і вимірювали оптичну щільність (ОЩ) розчинів в лунках при довжині хвилі 450 нм. Інтенсивність жовтого забарвлення пропорційна концентрації, що міститься в зразку інтерлейкіну. На підставі калібрувального графіка розраховували концентрацію інтерлейкіну в аналізованому зразку.

Ampli-sRANKL встановлювали по набору «ampIi-sRANKL human» (BIOMEDICA, Австрія), призначеного для кількісного визначення ampli-sRANKL в людській сироватці, плазмі, супернатанті клітинних культур методом імуноферментного аналізу. Набір розрахований на визначення в діапазоні 0 - 2 пмоль/л. Чутливість набору 0,02 пмоль/л. На поверхню лунок стрипів попередньо нанесений рекомбінантний OPG. У відповідні лунки вносили стандарти, контролю або досліджувані зразки, а потім біотиніліровані анти-sRANKL антитіла. Стрипи заклеювали та інкубували добу при

кімнатній температурі і струшуванні. Після закінчення часу інкубації компоненти, що не зв'язалися, видаляли і промивали лунки. Потім вносили кон'югат - стрептавідин лужну фосфатазу і знову інкубували. Стрипи промивали і вносили спочатку Amplifier A (органічна сіль і буферний розчин ферменту з тетразолієм фіолетовим) а потім Amplifier (стабілізований розчин NADPH). Плашку інкубували 45 хвилин при кімнатній температурі. Зупиняли реакцію внесенням у всі лунки стоп-реагенту і відразу ж вимірювали ОЩ розчинів в лунках при 490 нм. За отриманими даними будували калібрувальний графік і по ньому визначали концентрацію *ampli-sRANKL* в зразках.

Остеопротегерин (OPG) визначали по набору «Human Osteoprotegerin Instant ELISA» (Bioscience, Австрія). Набір призначений для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному варіанті імуноферментного аналізу з використанням поліклональних антитіл до OPG. Діапазон вимірюваних концентрацій 0 - 1000 пг/мл. Мінімально визначаєма концентрація не перевищує 2,5 пг/мл. На поверхні лунок адсорбовані антитіла до OPG. При додаванні в лунки планшета досліджуваних зразків відбувалося зв'язування антитіл до OPG. Потім продовжувалося зв'язування з розташованим там же на поверхні лунок біотиновим і стрептавідиновим кон'югатами. Лунки планшета заклеювали і інкубували протягом 3-х годин при кімнатній температурі і легкому струшуванні. Після інкубації біотиновий і стрептавідиновий кон'югати, що не зв'язалися, видаляли промиванням лунок. У всі лунки вносили розчин субстрату - пероксидаза хрому з тетраметілбензидином. Фарбування розчину в лунках пропорційно вмісту в них OPG. Реакцію зупиняли внесенням кислоти. Вимірювали ОЩ лунок при 450 нм. За калібрувальним графіком, побудованим в логарифмічному форматі, визначали концентрацію OPG в досліджуваних зразках.

Трансформуючий фактор росту - $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) досліджували набором «TGF - $\beta 1$ ELISA» (DRG, Німеччина), призначеним для кількісного

визначення TGF- β 1 методом «сандвіч»-варіанту твердофазного імуноферментного аналізу в сироватці, плазмі крові або супернатанті клітинних культур. Набір розрахований на визначення TGF- β 1 у діапазоні 0 - 600 пг/мл, мінімально виявляема концентрація TGF- β 1 даними набором становить 1,9 пг/мл. Перед тестуванням стандартів і зразків їх розводили у буфері для аналізу, підкислювали HCl і нейтралізували NaOH. Потім нейтралізовані стандарти і зразки вносили у лунки, вкриті поліклональними антитілами, заклеювали плашку і інкубували протягом 8-16 годин у холодильнику при 4°C. Після інкубації матеріал, що не зв'язався видаляли промиванням. Потім вносили у всі лунки антисироватки (моноклональні мишачі антитіла до TGF- β 1, заклеювали і знову інкубували протягом 2-х годин при кімнатній температурі. Матеріал, що не зв'язався, видаляли промиванням. Вносили у всі лунки ензимний кон'югат (антимишиний біотин). Інкубували 45 хвилин при кімнатній температурі. Знову видаляли промиванням матеріал, що не зв'язався, і вносили у всі лунки ензимний комплекс (стрептавідин - пероксидаза хрому). Інкубували 45 хвилин при кімнатній температурі. Видаляли незв'язаний матеріал і вносили розчин тетраметілбензидина. Інкубували в темному місці 15 хвилин. Фарбування в лунках прямо пропорційно концентрації TGF- β 1 в досліджуваних зразках. Реакцію зупиняли внесеним у всі лунки розчину кислоти - Стоп-реагенту. Вимірювали ОЩ лунок при 450 нм. Будували калібрувальний графік і по ньому визначали концентрацію TGF- β 1 у зразках.

Адипонектин характеризували по набору «Human Adiponectin ELISA» (BioVendor, Чехія). Набір призначений для кількісного визначення адипонектину в сироватці або плазмі крові методом імуноферментного аналізу. Діапазон визначуваних концентрацій 0 - 10 мкг/мл, чутливість набору становить 0,026 мкг/мл. В ході аналізу передбачається одночасне інкубування стандартів, контролів та зразків в лунках планшета, попередньо покритих рекомбінантним адипонектином та внесеним туди ж кон'югатом, що складається з поліклональних антитіл проти антитіл адипонектину,

кон'югованих з пероксидазою хрому. Планшет заклеювали та інкубували 2 години при кімнатній температурі і легкому струшуванні. Потім видаляли компоненти, що не зв'язалися промиванням і вносили у всі лунки субстрат і знову інкубували в темному місці. Стежили за розвитком фарбування в лунках - чим вище концентрація, тим нижче ОЩ. Зупиняли реакцію внесенням розчину кислоти. Вимірювали ОЩ розчинів в лунках при 450 нм. За отриманими даними будували калібрувальний графік в логарифмічному масштабі і визначали концентрацію адипонектину в пробі за калібрувальним графіком.

Вісфатин визначали по набору «Human /Mouse/ Rat Visfatin Enzyme Immunoassay Kit» (RayBio, США), призначеного для кількісного визначення вісфатина методом конкурентного імуноферментного аналізу в сироватці і плазмі крові. Діапазон визначуваних концентрацій 0,1 - 1000 нг/мл. Чутливість набору становить 0,379 нг/мл. Перед початком аналізу розводили зразки, стандарти і контролю додаванням до кожного біотинілірованого вісфатина в певній концентрації. Хід дослідження починали внесенням у всі лунки антивісфатинових антитіл і інкубуванням плашки протягом 1,5 годин при кімнатній температурі при обережному струшуванні планшета. Після закінчення інкубації видаляли промиванням компоненти, що не зв'язалися. Вносили стандарти, контроль і зразки, попередньо підготовлені, як зазначено вище. Плашку заклеювали та інкубували 2,5 години при кімнатній температурі і легкому струшуванні. Потім знову видаляли промиванням компоненти, що не зв'язалися. Вносили у всі лунки стрептавідин - HRP, заклеювали і знову інкубували 45 хвилин. Незв'язавшийся стрептавідин - HRP видаляли промиванням і вносили у всі лунки субстрат тетраметілбензидина і стежили за розвитком забарвлення. Фарбування розчинів в лунках зворотно пропорційно вісфатину, що міститься в лунках. Чим нижче концентрація вісфатину, тим інтенсивніше забарвлення в лунці. Зупиняли реакцію внесенням розчину кислоти і виміряли ОЩ лунок при 450 нм. За отриманими даними будували калібрувальний графік в

логарифмічному масштабі. За калібрувальним графіком визначали концентрацію вісфатина в пробі.

Паратиреоїдний гормон встановлювали за допомогою набору «PTG Intact» (DRG, США). Набір призначений для кількісного визначення інтактного паратиреоїдного гормону у сироватці крові методом твердофазного імуноферментного аналізу в діапазоні 0 - 700 пг/мл. Чутливість набору становить 1,57 пг/мл. Калібратори, контролю або зразки одночасно інкубували в лунках, покритих стрептавідином. Туди ж вносили біотиніліровані антитіла, а потім пероксидазу, мічену антитілами. Стрипи заклеювали та інкубували при кімнатній температурі і легкому струшуванні протягом 3 годин. В кінці інкубації стрипи промивали для видалення нез'язаних компонентів. Тверду фазу інкубували з субстратом - тетраметілбензидином. Зупиняли реакцію внесенням кислоти. Інтенсивність жовтого кольору прямо пропорційна концентрації інтактного паратиреоїдного гормону у зразку. Вимірювали ОЩ розчинів в лунках при 450 нм (для побудови калібрувального графіка і визначення концентрації в лунках в діапазоні 0 - 200 пг/мл) і 405 нм (для підвищення аналітичної точності набору в діапазоні концентрацій 200 - 700 пг/мл). За отриманими даними будували калібрувальні графіки для довжин хвиль 450 і 405 нм. Визначали концентрацію в лунках за калібрувальним графіком, в залежності від ОЩ розчинів.

Кальцитонін досліджували по набору «Calcitonin ELISA» (DRG, США). Набір призначений для кількісного визначення концентрації кальцитоніну в сироватці крові методом твердофазного імуноферментного аналізу. Діапазон визначуваних концентрацій 0 - 1000 пг/мл. Чутливість набору 1 пг/мл. Хід дослідження такий самий, як і для визначення паратиреоїдного гормону. Наприкінці дослідження виміряли ОЩ лунок при двох довжинах хвиль - 450 нм (для побудови калібрувального графіка і визначення концентрації кальцитоніну в діапазоні 0 - 300 пг/мл) і 405 нм (для підвищення аналітичної точності набору в діапазоні визначуваних концентрацій 300-1000 пг/мл). Далі

будували два калібрувальних графіка для двох довжин хвиль. Якщо ймовірна концентрація кальцитоніну в пробі менше 300 пг/мл, то визначали концентрацію по калібрувальному графіку, побудованому при 450 нм. Якщо більше 300 пг/мл, то за графіком для 405 нм.

Естрадіол визначали за допомогою набору фірми Brahms (Німеччина) та DBC (Канада) на аналізаторі «Тесап» (Австрія) призначеному для кількісного визначення естрадіолу в сироватці або плазмі крові методом твердофазного імуноферментного аналізу. Принцип роботи набору заснований на конкурентному зв'язуванні. Поверхня лунок покрита поліклональними антитілами проти естрадіолу. Ендогенний естрадіол із зразків самиць-щурів конкурує з кон'югатом пероксидази хрому. Після інкубації незв'язаний кон'югат вимивали. Кількість зв'язаної пероксидази зворотно пропорційна концентрації естрадіолу в зразку. А після додавання розчину субстрату, вимірювали ОЩ лунок при 450 нм, інтенсивність забарвлення розчинів у лунках зворотно пропорційна концентрації естрадіолу в контрольних зразках. Набір розрахований на визначення естрадіолу в діапазоні 0 - 2000 пг/мл. Мінімально визначаєма за допомогою цього набору концентрація естрадіолу становить 9,714 пг/мл.

Оксипролін. Характеристику загального, вільного та зв'язаного ОП у сечі і сироватці крові проводили згідно з методикою [18], яка базується на визначенні ОЩ червоного хромогена, одержуваного в результаті окислення молекули ОП хлораміном Б і конденсації продуктів його окислення з парадіметиламінобензальдегідом. Використовували реактиви кваліфікації х. ч. і ч. д. а. Приготування калібрувального розчину ОП здійснювали реактивами Ріерсе (Голландія). Вміст ОП в сечі виражали в мг/добу, в сироватці крові в мкмоль/л.

Агрегація тромбоцитів. Індукована агрегація тромбоцитів досліджувалася з використанням комп'ютеризованого аналізатора агрегації тромбоцитів «SOLAR 2110» (Білорусь) за методом [14].

В якості індуктора використовували аденозиндіфосфат (АДФ) в

концентрації 2,5, 5,0 і 10,0 мкмоль /л. Запис агрегатограм проводився при 37°C протягом 10 хвилин. Подальший аналіз агрегаційної кривої включав в себе визначення наступних показників: 1) ступеня агрегації - максимального % світлопропускання плазми, 2) часу досягнення максимальної швидкості агрегації - часу досягнення максимального % світло пропускання, 3) швидкості агрегації, яка розраховувалася через 30 секунд після початку агрегації тромбоцитів.

Рівень загального білка у сечі досліджували по набору «Загальний білок-УЛ» (Фелисит-Діагностика, Україна), призначеному для визначення загального білка в сечі та лікворі колориметричним методом з пірогалоловим червоним. Принцип дії набору заснований на взаємодії білка в зразку з пірогалоловим червоним і молібдатом натрію, утворюючи забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації білка в пробі. Діапазон визначуваних концентрацій за допомогою цього набору становить 50-2000 мг/л. Коефіцієнт варіації визначення не більше 5 %.

Рівень екскреції альбуміну з сечею визначали за допомогою набору ІмуноФА-Мікроальбумін (ЗАТ «НВО Імунотех», Росія), призначеного для кількісного визначення вмісту мікрокількостей альбуміну (мікроальбумінурії) в сечі методом конкурентного твердофазного імуноферментного аналізу. Принцип методу заснований на конкуренції альбуміну з вимірюваної проби і альбуміну, міченого пероксидазою, через центри зв'язування специфічних до альбуміну антитіл, іммобілізованих на поверхні лунок полістиролового планшета. Кількість кон'югату, що зв'язався, виявляли за допомогою субстрату 3,3',3,5'-тетраметілбензидина. Інтенсивність забарвлення продуктів ферментативної реакції окислення субстрату зворотно пропорційна концентрації альбуміну, що міститься в аналізованому зразку. Концентрацію альбуміну в аналізованих пробах визначали за калібрувальним графіком залежності ОЩ від вмісту альбуміну в каліброваних пробах. Залежність концентрації альбуміну в зразках сечі при розведенні їх сечею, яка не містить альбумін, має лінійний характер у

діапазоні концентрацій 5,0 - 250 мг/л і становить 90-110%.

Креатинін досліджували за допомогою біохімічного набору Creatinine liquidcolor (HUMAN, Німеччина), призначеному для визначення креатиніну кінетичним методом Jaffe з лужним пікратом. Сечу перед дослідженням розводили дистильованою водою у 50 разів. Креатинін із зразка реагує з пікратом в лужному середовищі, формуючи забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації креатиніну в зразку, інтенсивність забарвлення вимірювали при 500 нм, залежність лінійна до концентрації креатиніну 300 мг/дл.

Сечовину визначали за допомогою набору UREA liquidcolor (HUMAN, Німеччина). Набір призначений для колориметричного ферментативного визначення сечовини в сироватці, плазмі або сечі. Сечу перед дослідженням розводили в 101 раз дистильованою водою. В ході визначення сечовина із зразків гідролізується уреазою до амонію і двоокису вуглецю. У присутності гіпохлориту і саліцилату амоній дає зелене забарвлення. Поглинання при 578 нм пропорційно концентрації сечовини в зразку, залежність лінійна до концентрації сечовини в сечі 6600 ммоль/л.

Світлова мікроскопія. Зразки тканин пародонта фіксували в 10 % нейтральному формаліні, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації, проводили через хлороформ, хлороформ-парафін і заливали в парафін. Зрізи товщиною 4-6 мкм, були виготовлені на санному мікротомі і забарвлені гематоксилін-еозином, а також пікрофуксином за Ван-Гізоном [4, 7].

Гістохімічні дослідження. Для оцінки накопичення та визначення типу колагену в зразках тканини використовували гістохімічну реакцію з пікросіріусом червоним [7]. Вивчення колагену було проведено в поляризованому світлі на мікроскопі "Polmu-A".

Для аналізу статистичної достовірності відмінностей між групами статистичну обробку результатів досліджень проводили залежно від характеру розподілу даних таким чином: якщо розподіл був близький до нормального, аналіз проводили з використанням методів варіаційної

статистики, пакету програм Statistica 8.0 - статистичного методу two-way ANOVA (Fisher LCD post-hoc test), якщо він значно відрізнявся від нормального - відмінності між групами визначали за методом «Kruskal-Wallis ANOVA and median test». Кореляційний аналіз проводили в тому же пакеті Statistica 8.0, за допомогою параметричних та непараметричних методів, в залежності від характеру розподілу. Вірогідність відмінностей між показниками контрольної та дослідних груп визначали за критеріями Стьюдента та Крускала-Уолліса [6] за допомогою програми «Excel». Рівень достовірності приймали при $p < 0,05$.

Основні дослідження проведено в Центральній науково-дослідній лабораторії НФаУ, яка має свідоцтво про атестацію вимірювальної лабораторії, відповідає критеріям атестації та атестована на проведення вимірювань в сфері поширення державного метрологічного нагляду в галузі охорони здоров'я (свідоцтво № 008/11 від 18.10.2016 р.), а також в ЦНДЛ ХМАПО (директор – д.біол.н. Павлов С.Б.), що атестована ГОМС МОЗ України (Свідоцтва про атестацію №095/15 від 08 грудня 2015 р.).

Гістоморфологічне дослідження експериментального матеріалу проведено кандидатом біологічних наук, доцентом кафедри гістології Харківського національного медичного університету МОЗ України – Деєвою Т. В.

Список використаних джерел у Розділі 2:

1. Гирич С. В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах. *Лабораторная диагностика*. 1999. № 4. С. 45–46.
2. Дроговоз С. М., Доровський О. В., Бутко Я. О. Вивчення протизапальної активності мазі з амікацином на моделі скипидарного дерматиту у щурів. *Ліки*. 2006. № 3–4. С. 43–46.
3. Кишкун А. А. Руководство по лабораторным методам диагностики. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. 800 с.

4. Коржевский Д. Э., Гиляров А. В. Основы гистологической техники : практ. руков. СПб. : СпецЛит, 2010. 95 с.
5. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988. № 1. С. 16–19.
6. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико–биологических исследованиях с использованием Excel. К. : МОРИОН, 2000. 320 с.
7. Меркулов Г. А. Курс патологогистологической техники: 5-е изд., испр. и доп. Л. : Медгиз, 1969. 423 с.
8. Определение свободного и связанного оксипролина в моче / П. Н. Шараев и др. *Лабораторное дело*. 1990. № 12. С. 23–25.
9. Общие этические принципы экспериментов на животных: материалы I Национального конгресса по биоэтике, 2001. К. : НАНУ. 16 с.
10. Резніков О. Г., Соловійов А. І., Стефанов О. В. Біотична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах: метод. рекомендації. *Вісник фармакології і фармації*. 2006. № 7. С. 47–61.
11. Сенников С. В., Силков А. Н. Методы определения цитокинов. *Цитокины и воспаление*. 2015. № 1 (4). С. 22–27.
12. Спосіб моделювання альвеоліту у лабораторних тварин (щурів) / В. Ф. Черемісіна, М. І. Гармаш, А. І. Березнякова // пат. 129440 Україна: МПК G09B 23/28. № 201805815; заявл. 24.05.2018; опубл. 25.10.2018, Бюл. № 20. 3 с.
13. Спосіб моделювання гінгівіту / А. П. Левицький, І. О. Селиванська, О. А. Макаренко, Л. М. Розсаханова, І. В. Ходаков // пат. 31011 Україна: МПК А61Р 31/00, А61К 35/56, А61С 7/00. № 200711608; заявл. 22.10.2007; опубл. 25.03.2008, Бюл. № 6. 3 с.
14. Спосіб оцінки агрегаційної активності тромбоцитів / С. Б. Павлов, Н. М. Бабенко, М. В. Кумечко, Л. В. Черних // пат. 77372 Україна: МПК G01N 33/86. № 201209532; заявл. 06.08.2012; опубл. 11.02.2013, Бюл. 3. 4 с.
15. Стальная И. Д. Метод определения диеновых конъюгаций

ненасыщенных высших жирных кислот / под. ред. В. Н. Ореховича. М., 1977. С. 66–68.

16. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. М. : Медицина, 1977. С. 66–68.

17. Сукманский О. И., Макаренко О. А. Экспериментальная модель генерализованного пародонтита. *Вісник стоматології*. 2006. № 2. С. 2–3.

18. Шараев П. Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови. *Лабораторное дело*. 1990. № 5. С. 283–285.

19. Alpdogan Kantaci, Hatice Hasturk, Van Dyke T. E. Animal models for periodontal regeneration and periimplant responses. *Periodontol*. 2000. Vol. 1. P. 66–82.

20. Astrup P. A simple electrometric technique for the Determination of Carbon Dioxide Tension. *Scand. J. Din. Lab. Invest*. 1956. Vol. 8. P. 33.

РОЗДІЛ 3

ФІЗІОЛОГІЧНА СИСТЕМА СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ ТА ЇЇ РЕАКЦІЯ НА ГОСТРЕ ЛОКАЛЬНЕ ЗАПАЛЕННЯ В РІЗНИХ ОРГАНАХ

3.1. Реакція сполучної тканини різних органів на гостре скипидарне запалення шкіри спини щурів

В останні роки широко обговорюється роль імунної системи в реакціях адаптації до дії екстремальних факторів [1, 2, 7]. Дана детальна характеристика лімфоїдних клітин в регуляції регенерації тканин і метаболічних процесів в організмі [3]. Активно вивчається участь системи фагоцитуючих мононуклеарів в цих процесах [18, 19, 22]. Висловлюється гіпотеза про регуляторну дію системи тучних клітин [20]. При цьому варто відзначити, що зазначені клітинні елементи не ізольовані один від одного. Навпаки, вони знаходяться в тісному взаємозв'язку між собою і реалізують основний спектр своєї активності в складі сполучної тканини організму. Реакція організму на дію різних екстремальних чинників багато в чому залежить від стану сполучної тканини. І найбільш яскравим прикладом цього є запалення. В останні роки теорія запалення зазнала значних змін. Традиційні уявлення про місцевий характер цього типового патологічного процесу доповнені теорією системного запалення [5]. Але вона поділяється далеко не всіма авторами. У той же час не викликає сумніву той факт, що реакція сполучної тканини, яка складає основу запалення, не обмежується лише місцем ушкодження, а охоплює всю тканину в цілому. При цьому слід очікувати, що вираженість реакції повинна змінюватися в міру віддалення від місця травми. При всій очевидності такого припущення, воно виявилось недостатньо експериментально обґрунтованим, що і склало суть цього дослідження.

Проведені морфологічні дослідження свідчать, що через 6 годин після підшкірної ін'єкції скипидару в області запалення в глибоких шарах дерми і в підшкірній клітковині спостерігалися вогнища деструкції сполучної тканини

з вираженим набряком (рис. 3.1,а). Перифокально визначалася виражена лейкоцитарна інфільтрація, дифузна міомаліяція, інтерстиціальний набряк. Все деривати шкіри збережені. Навколо структур дерми спостерігали дифузне гнійне запалення (рис. 3.1,б).



Рис. 3. 1 а. РАС. Спостерігається дефект багат шарового плоского епітелію. Дно покрите фіброзним нальотом. Збережений епітелій вакуолізується. Дно виразки представлено некротичною тканиною, під якою відмічається слабо виражена лімфоцитарна інфільтрація. Гематоксилін та еозин.×400

Рис. 3. 1,б. Спостерігається дрібнокаліберні кровоносні судини. Гематоксилін та еозин.×400

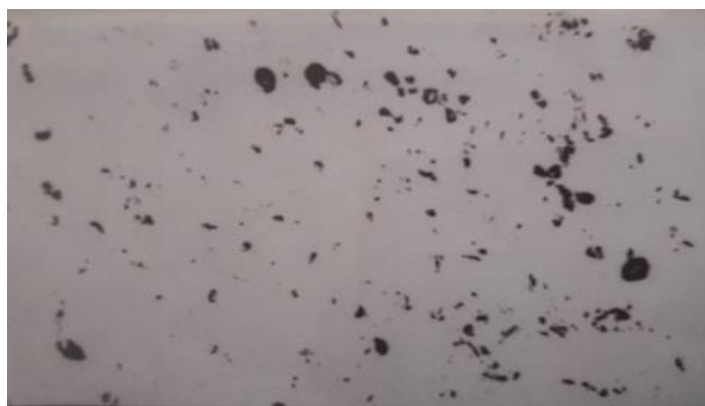


Рис. 3.1, в. Інтраепітеліально: інфільтрація CD8+ Т-лімфоцитів. Імуногістохімія.×400

На другу добу межі вогнища деструкції стали більш виразними. У центрі його посилювався набряк, а з зовнішнього боку від сформованого лейкоцитарного валу визначали досить широкий шар грануляційної тканини з новоутвореними капілярами, фібробластами (рис. 1,в) і поперечно-посмугована м'язова тканина з вогнищевим запаленням без міомаляції (без некрозу). Осередок деструкції чітко спостерігався в підшкірній жировій клітковині. У дермі були мінімальні явища запалення – інфільтрація окремими лімфо-гістіоцитарними елементами, слабо виражений набряк (рис. 1,г; 1,д).



Рис. 3. 1, г. Субепітеліально: рясна інфільтрація CD8+ Т-лімфоцитів. Спостерігається базальна дезорганізація мембрани і набряк епітелію між епітелієм та інфільтратом. Імуногістохімія.×200

Рис. 3. 1,д. Інфільтрація тканин CD8+ Т-лімфоцитами і лімфоепітеліальне пошкодження. Імуногістохімія.×400

У периферичної крові після введення скипидару розвивається нейтрофільний лейкоцитоз (кількість нейтрофілів в крові інтактних тварин - $2,57 \pm 0,20 \times 10^3/\text{мкл}$), а через 6 годин після введення скипидару їх кількість збільшувалася до $4,65 \pm 0,54 \times 10^3/\text{л}$ ($p \leq 0,05$). Крім того, щодо інтактних тварин достовірно знижувався вміст лімфоцитів (з $7,20 \pm 0,35 \times 10^3/\text{л}$ до $5,78 \pm 0,52 \times 10^3/\text{л}$). Крім реакції клітин білої крові через 6 годин після введення скипидару відзначалося підвищення кількості тромбоцитів (з $638,00 \pm 22,96 \times 10^3/\text{л}$ до $855,69 \pm 53,10 \times 10^3/\text{мкл}$) і тромбокрити (з $0,43 \pm 0,01$ % до

0,56±0,03 %). Це, мабуть, є частиною неспецифічної стресорної реакції на вплив флогогену. До другої доби вміст лімфоцитів в периферичній крові продовжував перебувати на зниженому щодо контролю рівні (5,99±0,43x10³/л). Решта показників білої крові і тромбоцитів поверталися до рівня контролю.

Оцінка відносного вмісту сухої речовини і води в досліджених органах свідчить про те, що розвиток ексудативних явищ спостерігається не тільки в осередку запалення, а й на віддаленні від нього (табл. 3.1). Так, через 6 годин після введення скипидару відносна маса сухої речовини надниркових залоз і шкіри у вогнищі запалення ставала менше, ніж в інтактних органах. Це вказувало на розвиток набряку. При цьому в тимусі і кишечнику показники не змінювалися.

На другу добу в надниркових залозах відносна маса сухої речовини збільшувалася в порівнянні з 6-годинними показниками і поверталася до рівня інтактних тварин. В тимусі та кишечнику співвідношення сухої речовини і води не відрізнялися від інтактних. При цьому в шкірі у вогнищі запалення спостерігалось наростання ексудативних явищ. Проведені морфометричні дослідження свідчать також про збільшення в вогнищі запалення через 6 годин після введення скипидару (табл. 3.1) діаметра дрібних судин (прекапілярів, капілярів, посткапілярних венул). Відзначали розширення судин мікроциркуляторного русла (МЦР) в тимусі. У надниркових залозах, кишечнику і шкірі на відстані від вогнища запалення діаметр судин від показників інтактних щурів не відрізнявся. Через дві доби в тимусі діаметр судин МЦР залишався на підвищеному щодо контролю рівні (табл. 3.1). При цьому в ділянці запалення в шкірі спини спостерігалось підвищення показників як щодо інтактних значень, так і в порівнянні з реакцією, що спостерігалася через 6 ч. В інших вивчених органах статистично значущих змін не відбувалося.

Таблиця 3.1

Показники стадії ексудації в органах щурів при гострому скипидарному запаленні (M±m)

Група	Орган	Суша маса, %	Вода, %	Діаметр судин МЦР, мкм
Інтактні	Наднирники	32,7±1,81	67,31±1,81	10,7±1,89
	Тимус	24,9±0,51	75,1±0,51	10,5±1,15
	Кишечник	21,1±1,91	79,1±1,91	11,9±1,17
	Слизова альвеолярного відростку пародонта	50,5±3,47	49,5±3,47	11,1±1,05
	Шкіра спини (місце введення)	42,8±1,12	57,2±1,12	11,1±1,05
Запалення 6 годин	Наднирники	28,8±0,46*	71,2±0,46*	10,4±0,82
	Тимус	25,1±0,82	75,1±0,82	15,1±0,37*
	Кишечник	22,7±0,65	77,4±0,65	12,4±2,08
	Слизова альвеолярного відростку пародонта	41,3±2,66*	58,7±2,66*	10,4±0,97
	Шкіра спини (місце введення)	23,5±1,01*	76,5±1,01*	17,0±0,91*
Запалення 2 доби	Наднирники	33,4±1,74**	66,6±1,74**	11,8±0,94
	Тимус	25,3±0,85	74,7±0,85	13,6±1,57*
	Кишечник	22,1±0,40	77,9±0,40	9,9±0,29
	Слизова альвеолярного відростку пародонта	50,6±1,77**	49,4±1,77**	11,7±0,91
	Шкіра спини (місце введення)	19,2±2,11*	80,9±2,11*	21,9±0,80*/**

Примітки: * - відмінності відносно інтактної групи ($p \leq 0,05$); ** - відмінності достовірні з 6 год ($p \leq 0,05$).

Таким чином, у вогнищі запалення збільшується діаметр дрібних судин і підвищується їх проникність з розвитком набряку. На віддаленні від вогнища вміст води в органах також дещо підвищувався. Але це не пов'язано зі змінами просвіту судин МЦР.

При аналізі реакції клітинного компонента сполучної тканини різних органів встановлено, що загальне число клітин сполучних тканин через 6 годин після введення скипидару збільшувалося в капсулі наднирників в порівнянні з контролем в 1,4 рази (табл. 3.2). В інших органах на ранньому терміні достовірних змін не спостерігалось.

При цьому на другу добу відзначалося підвищення загального вмісту клітин в надниркових залозах і тимусі в 1,7 рази, шкірі - в 1,5 рази в порівнянні з контролем. У той час як в шлунку відбувалося зниження сумарної кількості клітин сполучної тканини в 1,5 рази в порівнянні з контролем. У кишечнику достовірних змін не було. Аналіз експресії Ki-67 свідчить, що проліферативна активність клітин сполучної тканини в різних органах у відповідь на запалення змінюється неоднаково. Через 6 годин після введення скипидару в порівнянні з контролем в 3,8 рази збільшувалася кількість проліферуючих клітин сполучної тканини шкіри спини (табл. 3.2). У капсулі наднирників, навпаки, відзначалося зниження даного показника в два рази.

На другу добу запалення вміст Ki67 + клітин сполучної тканини збільшувався в надниркових залозах, тимусі і шкірі спини в порівнянні з контролем в 6,4, 2,7 і 7,1 рази відповідно. В той же час, в шлунку відмічалось зниження числа клітин, які діляться, в порівнянні з 6-годинними показниками в 2,4 рази. У сполучній тканини кишечника зменшувалася кількість Ki-67 + клітин по відношенню до рівня інтактних тварин в 1,7 рази. Відомо, що стромальні клітини в фізіологічному стані мають невисоку проліферативну активність. При цьому діляться переважно клітини фібробластичного ряду. Дефінітивні форми лейкоцитів, макрофагів і тучних клітин можуть проліферувати під впливом ряду факторів [].

Таблиця 3.2

Загальна кількість клітин сполучної тканини щурів в різних органах та показники проліферації при гострому скипидарному запаленні (M±m)

Група	Орган	Клітинність, кл./1 мм ²	Ki-67+ клітин, кл./1 мм ²
Інтактні	Надирники	2178,6±174,86	44,4±5,85
	Тимус	1290,3±140,65	49,8±14,37
	Кишечник	4103,1±211,68	364,2±38,16
	Шлунок	5209,3±101,73	84,1±18,93
	Слизова альвеолярного відростку пародонта	2140,1±178,54	38,1±6,20
Запалення 6 годин	Надирники	3102,0±302,06*	21,8±2,54*
	Тимус	1171,3±58,91	74,7±23,06
	Кишечник	3609,9±192,82	308,5±47,62
	Шлунок	4444,6±420,33	140,2±29,99
	Слизова альвеолярного відростку пародонта	2497,5±105,86	145,3±28,08*
Запалення 2 доби	Надирники	3708,8±78,79*	282,2±25,66*/**
	Тимус	2188,1±114,44*/**	135,4±25,76*
	Кишечник	4111,3±477,99	208,6±40,84*
	Шлунок	3364,5±153,28*/**	57,3±10,08**
	Слизова альвеолярного відростку пародонту	3145,2±228,93*	270,8±33,87*/**

Примітки: * - відмінності відносно інтактної групи ($p \leq 0,05$); ** - відмінності достовірні з 6 год ($p \leq 0,05$).

Однак, в цілому, вони не схильні до поділу. Тому експресію ядерного протеїну Ki-67, що спостерігалася в сполучній тканині, можна пов'язати переважно з фібробластами, частково лімфоцитами (в тканинах,

асоційованих з лімфовузлами, наприклад, в кишечнику) і малодиференційованими клітинами-попередниками.

При оцінці вкладу окремих типів клітин у формування реакції на запалення встановлено, що через 6 годин після введення скипидару в сполучнотканинній капсулі наднирників в 1,5 рази підвищувалася кількість клітин фібробластичного ряду (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Показники морфофункціональної активності сполучної тканини капсули наднирників у щурів при скипидарному запаленні (M±m)

Наднирники	Інтактні	Запалення 6 год	Запалення 2 доби
Фібробласти, кл./мм ²	1950,1±130,23	2966,5±290,66*	3377,4±60,88*
Макрофаги (CD68+), кл./мм ²	21,8±0,95	36,3±16,41	51,7±14,19
Тучні клітини, кл./мм ²	38,5±9,32	57,1±11,72	41,6±9,30
Коефіцієнт дегрануляції тучних клітин, %	26,2±1,15	77,3±9,80*	39,5±7,52**
Індекс гранулолізу тучних клітин, %	11,1±3,85	23,2±6,05	13,8±4,79
Оптична щільність тучних клітин, ум.од.	0,3±0,01	0,2±0,01*	0,3±0,02
Лейкоцити (CD45+), кл./мм ²	142,9±14,09	42,1±11,20*	238,1±65,14**

Примітки: * - відмінності відносно інтактної групи ($p \leq 0,05$); ** - відмінності достовірні з 6 год ($p \leq 0,05$).

Щільність лейкоцитів, навпаки, знижувалася в 3,4 рази. Кількість макрофагів і тучних клітин не змінювалося. При цьому, однак, мастоцити активно дегранулюють. Про це свідчило підвищення коефіцієнта дегрануляції в 3 рази і зниження оптичної щільності стовбурових клітин. Активація секреції мастоцитів капсули наднирників в розвитку адаптивних реакцій організму має важливе значення, оскільки адреналіновий

стероїдогенез безпосередньо регулюється вазоактивними секретами тучних клітин [16]. До другої доби абсолютна кількість фібробластів продовжувала збільшуватися (табл. 3.3). При цьому вміст макрофагів, лейкоцитів і тучних клітин відповідав інтактним тваринам. Показники функціональної активності мастоцитів поверталися до рівня контролю. На відміну від капсули наднирників в сполучній тканині трабекул тимуса через 6 годин після введення скипидару достовірних змін кількості клітин не відзначали (табл. 3.4). При цьому спостерігалася активація тучних клітин - збільшувався коефіцієнт дегрануляції (в 1,4 рази) і індекс гранулолізу (в 3,3 рази). Середня оптична щільність тучних клітин знижувалася відносно контролю в 1,4 рази.

Таблиця 3.4

Показники морфофункціональної активності сполучної тканини трабекул тимусу у щурів при скипидарному запаленні (M±m)

Тимус	Інтактні	Запалення 6 год	Запалення 2 доби
Фібробласти, кл./мм ²	600,1±113,60	544,8±60,53	1294,9±80,78*/**
Макрофаги (CD68+), кл./мм ²	302,7±69,88	221,1±14,91	252,2±23,77
Тучні клітини, кл./мм ²	170,4±11,91	147,2±8,76	231,1±35,12
Коефіцієнт дегрануляції тучних клітин, %	54,5±2,59	73,8±3,96*	52,2±4,54**
Індекс гранулолізу тучних клітин, %	7,5±2,51	24,8±3,79*	19,1±2,62*
Оптична щільність тучних клітин, ум.од.	0,3±0,01	0,2±0,006*	0,2±0,02
Лейкоцити (CD45+), кл./мм ²	206,2±56,43	258,4±52,23	407,8±67,06*

Примітки: * - відмінності відносно інтактної групи ($p \leq 0,05$); ** - відмінності достовірні з 6 год ($p \leq 0,05$).

Через дві доби після ініціації запалення в трабекулі тимуса різко (в два рази) збільшувалася щільність фібробластів в порівнянні з контролем

(табл. 3.4). У два рази відносно інтактних тварин підвищувалася і кількість лейкоцитів. Вміст макрофагів і мастоцитів не змінювався. Коефіцієнт дегрануляції і оптична щільність тучних клітин поверталися до вихідних показників, в той час як індекс гранулолізу залишався на підвищеному щодо контролю рівні. У слизовій альвеолярного відростку пародонта, на віддаленій від вогнища запалення ділянці, через 6 годин після ін'єкції скипидару значно підвищувалася щільність CD68 + макрофагів (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Показники морфофункціональної активності сполучної тканини слизової альвеолярного відростку пародонту у щурів при гострому скипидарному запаленні (M±m)

Слизова альвеолярного відростку пародонту	Інтактні	Запалення 6 год	Запалення 2 доби
Фібробласти, кл./мм ²	926,1±79,78	854,5±52,40	1892,6±220,80*/**
Макрофаги (CD68+), кл./мм ²	196,1±50,89	470,3±31,49*	265,8±48,88**
Тучні клітини, кл./мм ²	135,4±11,70	168,9±14,90	171,2±39,53
Коефіцієнт дегрануляції тучних клітин, %	34,9±2,86	49,6±8,22	52,2±8,45
Індекс гранулолізу тучних клітин, %	17,5±5,05	28,6±6,23	18,4±6,20
Оптична щільність тучних клітин, ум.од.	0,2±0,007	0,2±0,02	0,2±0,01
Лейкоцити (CD45+), кл./мм ²	754,9±106,67	1003,9±102,03	815,6±101,06

Примітки: * - відмінності відносно інтактної групи (p≤0,05); ** - відмінності достовірні з 6 год (p≤0,05).

Мабуть, дана реакція має адаптивне значення, пов'язана з необхідністю підвищення захисних властивостей оточуючих тканин з високим ризиком інфікування та пошкодження. Вміст інших типів клітин сполучної тканини не

відрізнявся від інтактних. Функціональна активність мастоцитів не змінювалася. На другу добу запалення кількість фібробластів в дермі збільшувалася в 2 рази в порівнянні з інтактними тваринами. Активно на запалення реагували макрофаги (табл. 3.5). Вміст інших клітинних типів не відрізнявся від контрольних значень.

У власній пластинці і підслизової кишечнику через 6 годин після введення скипидару різко збільшувалася кількість клітин фібробластичного ряду, щільність лейкоцитів, навпаки, в порівнянні з контролем знижувалася в 1,7 рази (табл. 3.6). Число макрофагів і тучних клітин, також як і показники їх функціональної активності, не змінювалися.

На другу добу розвитку запалення кількість фібробластів продовжувала зростати (табл. 3.6). При цьому відзначалося зниження абсолютного числа тучних клітин в порівнянні з контролем в 1,9 рази. Знижувався також в 1,5 рази і коефіцієнт дегрануляції. Кількість лейкоцитів і макрофагів знаходилися на рівні інтактних значень.

Абсолютні показники клітинного складу сполучної тканини шлунку через 6 год не відрізнялися від значень у інтактних тварин (табл. 3.7). При цьому відзначалося підвищення секреторної активності тучних клітин, індекс гранулолізу мастоцитів сполучної тканини шлунку збільшувався в 1,7 рази, а оптична щільність знижувалася. На другу добу вміст лейкоцитів в сполучної тканини шлунку виявлявся суттєво нижчим за значення, знижувалася відносно 6-годинних показників і кількість макрофагів в 1,6 рази (табл. 3.7). Показники функціональної активності тучних клітин поверталися до рівня інтактних тварин. Одержані дані свідчать про те, що при місцевому запаленні змінюється і стан міжклітинної речовини сполучної тканини.

Через 6 год в шкірі в місці введення скипидару відзначалося підвищення вмісту сумарного оксипроліну в 1,3 рази. У слизовій альвеолярного відростку пародонту (на віддаленому від області запалення ділянці) кількість оксипроліну знижувалася відносно рівня контролю в 1,3

рази (рис. 1), що свідчило про переважання в обміні колагену катаболічних процесів.

Таблиця 3.6

Показники морфофункціональної активності сполучної тканини кишечника у щурів при гострому скипидарному запаленні (M±m)

Кишечник	Інтактні	Запалення 6 год	Запалення 2 доби
Фібробласти, кл./мм ²	779,8±65,64	1265,4±135,99*	1824,1±219,31*/**
Макрофаги (CD68+), кл./мм ²	451,4±80,70	534,4±77,00	355,9±54,16
Тучні клітини, кл./мм ²	390,3±29,68	358,1±31,91	209,9±47,93*/**
Коефіцієнт дегрануляції тучних клітин, %	66,7±4,30	66,3±6,37	43,3±6,35*/**
Індекс гранулолізу тучних клітин, %	88,6±3,91	81,1±8,78	86,5±5,55
Оптична щільність тучних клітин, ум.од.	0,1±0,004	0,1±0,008	0,1±0,01
Лейкоцити (CD45+), кл./мм ²	2469,5±267,22	1452,1±153,10*	1694,9±407,50

Примітки: * - відмінності відносно інтактної групи ($p \leq 0,05$); ** - відмінності достовірні з 6 год ($p \leq 0,05$).

Через 6 год в шкірі в місці введення скипидару відзначалося підвищення вмісту сумарного оксипроліну в 1,3 рази. У слизовій альвеолярного відростку пародонту (на віддаленому від області запалення ділянці) кількість оксипроліну знижувалася відносно рівня контролю в 1,3 рази (рис. 1), що свідчило про переважання в обміні колагену катаболічних процесів. В інших досліджених органах показники обміну колагену не змінювалися в порівнянні з інтактними тваринами. До других діб запалення в обміні колагену синтетичні явища починали переважати. Вміст оксипроліна, а відповідно і колагену, збільшувався в порівнянні з контролем

в надниркових залозах, тимусі, шлунку і шкірі в місці введення скипидару в 1,6, 1,8, 1,4 і 1,5 рази відповідно (рис. 3.2).

Таблиця 3.7

Показники морфофункціональної активності сполучної тканини шлунку у щурів при гострому скипидарному запаленні ($M \pm m$)

Шлунок	Інтактні	Запалення 6 год	Запалення 2 доби
Фібробласти, кл./мм ²	1579,8±192,17	1441,3±98,88	1232,7±71,22
Макрофаги (CD68+), кл./мм ²	318,3±49,50	392,2±42,39	240,7±44,89**
Тучні клітини, кл./мм ²	117,5±22,26	116,2±20,86	146,3±12,16
Коефіцієнт дегрануляції тучних клітин, %	61,0±5,34	71,9±6,21	48,3±6,34**
Індекс гранулолізу тучних клітин, %	52,1±2,48	86,3±3,75*	59,2±5,91**
Оптична щільність тучних клітин, ум.од.	0,2±0,008	0,1±0,001*	0,1±0,01**
Лейкоцити (CD45+), кл./мм ²	3125,1±171,67	2494,9±452,04	1744,8±129,90*

Примітки: * - відмінності відносно інтактної групи ($p \leq 0,05$); ** - відмінності достовірні з 6 год ($p \leq 0,05$).

В кишечнику відзначалося підвищення вмісту оксипроліну в порівнянні з 6-годинним рівнем в 1,5 рази (рис. 3. 2). У слизовій альвеолярного відростку пародонту кількість загального оксипроліну залишалася на зниженому щодо контролю рівні. Проведені дослідження вмісту оксипроліну в шкірі щурів через два тижні після введення скипидару свідчили про його підвищення в слизовій альвеолярного відростку пародонту до $11,35 \pm 0,89$ мкг/мг сухої маси. Отже, на ранніх термінах у віддалених від місця запалення ділянках шкіри переважають катаболічні явища. Пізніше, в продуктивну фазу запалення на віддалених від вогнища запалення починають наростати анаболічні процеси, також як і в шкірі в місці введення скипидару [4, 17].

Таким чином, у відповідь на локальне гостре запалення в сполучній тканині різних органів, в тому числі і СТ пародонта, відзначалася активація секреції тучних клітин, медіатори яких викликають підвищення проникності судин. Це призводить до генералізованого набряку. Найбільш активно реагують на вплив мастоцити залізистих ендокринних органів – надниркових залоз і тимусу, які беруть безпосередню участь в реалізації стрес-реакції і відповіді організму на введення флогогенного агента.

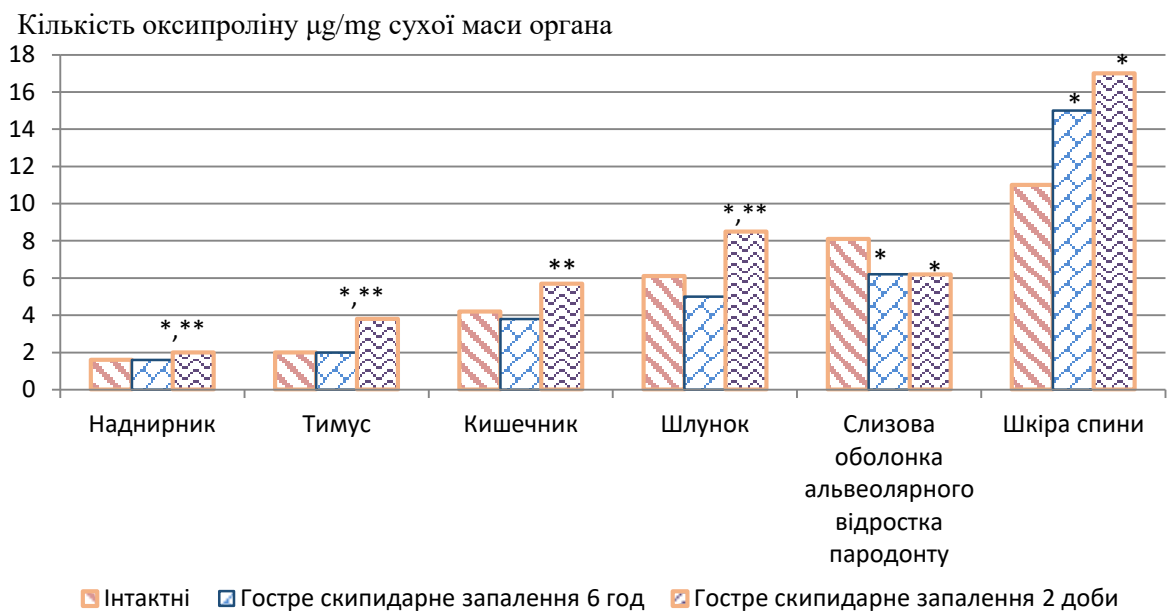


Рис.3.2. Вміст загального оксипроліну в органах щурів при гострому скипидарному запаленні

* - відмінності відносно інтактної групи ($p \leq 0,05$); ** - відмінності достовірні з 6 год ($p \leq 0,05$).

Механізм модулюючої дії мастоцитів на процеси репарації може бути пов'язаний з гальмуванням нейтрофілів, а також з регуляцією альтеративних явищ і активацією моноцитів-макрофагов, головним чином відповідальних за ранове очищення вогнища запалення. Крім опосередкованого ефекту тучних клітин через нейтрофіли і моноцити, має місце, по-видимому, і пряма стимулююча дія тучноклітинних медіаторів на фібробласти [12, 13]. В ході розвитку місцевої запальної реакції відзначається генералізоване збільшення кількості клітин фібробластичного ряду. Крім цього, змінюється їх

проліферативна активність і підвищується колагенопродукція. Це може служити патогенетичною основою в майбутньому фіброзних змін. На віддаленому від місця введення скипидару реагує сполучна тканина різних органів, в тому числі і сполучна тканина пародонта.

3.2. Імуноморфологічні та імуногістохімічні особливості показників сполучної тканини пародонта при гінгівіті і пародонтиті

Оскільки диференційна діагностика захворювань пародонту – одна із найбільш складних проблем в стоматологічній практиці, що обумовлено схожістю клінічних проявів різних нозологічних форм, часто не до кінця з'ясованим етіопатогенезом, наступним етапом експеримента було вивчення особливостей імуноморфологічних та імуногістохімічних показників при гінгівіті та пародонтиті [9, 10].

В результаті гістологічного дослідження виявлені припухлі колагенові волокна, набряк міжклітинної тканини, як при пародонтиті, так і при гінгівіті. В сполучній тканині між кровоносними судинами виражена лімфоцитарна та плазмоцитарна інфільтрація, місцями – келоїдні зміни. Імуногістохімічно в стромі зустрічаються як CD3+T, так і CD20+B-лімфоцити та переважання CD8+T-клітин. В сполучній тканині, в лімфоцитарних інфільтратах з вираженою перевагою в порівнянні із сегментоядерними лейкоцитами, представлені лімфоцити. Кількість гранулоцитів приблизно в 8-10 разів менше порівняно з лімфоцитами. Цікава особливість виявлена в динаміці кількісних показників лімфоцитів в залежності від захворювання: максимальна кількість CD4+TH-лімфоцитів представлено при гінгівіті (90,2±3,31; 39,9±3,25), а при пародонтиті їх кількість скорочується майже вдвічі (50,3±2,11; 15,9±2,15) (табл 3.8).

Стосовно CD8+T-лімфоцитів, їх максимальна кількість відмічається також при гінгівіті, а при пародонтиті вона збільшується в 5 разів. Співвідношення CD4+TH-лімфоцитів та CD8+TC-лімфоцитами (TH/TC) ми одержали в наступному вигляді: при гінгівіті – 2,5/1 (20,0±2,71; 8,8±1,89 %), при пародонтиті – 1/3 (110,0±3,11; 34,9±2,68 %). Це свідчить про те, що при

гінгівіті Т-хелпери переважають цитотоксичними лімфоцитами, а при пародонтиті, навпаки, різко переважають Т-цитотоксичні лімфоцити, тобто при більш вираженому клінічно захворюванні знижується хелперна функція Т-лімфоцитів і підвищується цитотоксичний ефект [6, 8, 11, 16, 21].

Таблиця 3.8

Кількісні показники імунокомпетентних клітин при пародонтиті та гінгівіті ($X \pm S_x$)

CD-маркер	Гінгівіт		Пародонтит	
	Абсолютна кількість	%	Абсолютна кількість	%
CD3+ Т	105,5±0,03	46,78±3,28	140,0±0,01	44,48±2,79
CD4+ Т	90,2±3,71	40,01±3,25	50,3±2,11	15,91±2,05
CD8+ Т	20,0±2,71	8,81±1,89	110,0±3,11	34,97±2,68
CD20+ В	8,3±2,12	3,77±0,32	12,4±0,73	3,91±0,92
CD68+ В	2,0±0,05	0,9±0,31	3,0±0,001	0,98±0,27
Сегм.ядерн.лейк.	12,0±1,12	3,41±0,92	5,0±1,53	1,01±0,47

Цікаву картину представляють кількісні зміни лімфоцитів. Зокрема, CD4+ ТН-лімфоцитів мало, і вони складають 30,0±0,71 (11,0±1,89 %). Стосовно CD8+ Т-лімфоцитів, їх кількість в 5 разів вище і дорівнює 150,0±2,21 (55,0±3,11 %). Таке співвідношення CD4+ ТН-лімфоцитів з CD8+ ТС-лімфоцитами (ТН/ТС) вказує на те, що при гінгівіті знижується хелперна функція Т-лімфоцитів та підвищується цитотоксичний ефект. Кількість CD20+ В-лімфоцитів при пародонтиті набагато менша порівняно з Т-лімфоцитами та складає 11,5±0,92 (4,2±0,61 %). Це вказує на те, що значення CD20+ В-лімфоцитів в патогенезі захворювань другорядне та їх кількісні зміни, в основному, повинні бути обумовлені не скільки тяжкістю пошкодження, скільки ступенем інфікування та особливостями мікробного агенту. Більш того, одержані результати свідчать ще про те, що в патогенезі пародонтиту ключовими є Т-лімфоцити та співвідношення між CD4+ ТН та

CD8+TC субпопуляціями. При гінгівіті, в залежності від стадії в морфогенезі, на передній план виступають васкулярні чи виразково-некротичні та запальні зміни, тобто явища периваскуліта.

Ще однією особливістю гінгівіту є те, що у лімфоцитів в клітинному інфільтраті представлені тільки CD3+, CD4+ та CD8+ Т-лімфоцитами. Стосовно В-лімфоцитів, вони майже не зустрічаються. З такою ж частотою зустрічаються макрофаги.

Таким чином, при гінгівіті запальний інфільтрат має виражений Т-лімфоцитарний характер. Лімфоцити представлені великою кількістю у всіх трьох популяціях: CD3+, CD4+ та CD8+. Окрім імуноцитів, у великій кількості зустрічалися і нейтрофільні лейкоцити.

Спираючись на вищезазначене, на основі гістологічного та імуногістохімічного вивчення тканин пародонту при гінгівіті можна вважати, що характерними гістологічними та імуногістохімічними ознаками вказаної патології є переважна участь в запаленні Т-лімфоцитів та сегментоядерних нейтрофілів, а також Т-лімфоцитарний периваскуліт. В патогенезі захворювання ключовими є кількісні та якісні зміни Т-лімфоцитів і співвідношення між субпопуляціями CD4+ Т та CD8+ Т з переважанням цитотоксичних CD8+ Т-лімфоцитів. Концентрація цитотоксичних Т-лімфоцитів переважно навколо дрібних кровоносних судин вказує на те, що цитотоксична агресія, в першу чергу, направлена на клітини стінок кровоносних судин, запускає процес їх пошкодження.

Т-лімфоцитарному васкуліту не слід давати однозначну етіологічну роль, оскільки Т-cells агресія проти судин може бути обумовлена пошкодженням кровоносних судин різної природи. Головним, по всій видимості, є зміни генетичних та фенотипових особливостей клітин стінок кровоносних судин, що, в кінцевому результаті, стає причиною Т-лімфотичної цитотоксичної агресії по відношенню до кровоносних судин.

Гістологічне дослідження експериментального матеріалу щурів при пародонтиті показало, що характерною морфологічною ознакою, яка

пародонтит відрізняє від інших нозологій, є пошкодження слинних залоз. Гістологічно при цьому виявляються перигранулярні інфільтрати. Ці дані співпадають з дослідженнями інших експериментаторів [13].

Таблиця 3.9

Показники кількості CD3+, CD4+, CD8+, CD20+ та сегментоядерних лейкоцитів при пародонтиті ($X \pm S_x$)

CD-маркер	Середня кількість	%
CD3+ T	8,0±0,01	29,7±2,76
CD4+ T	30,0±0,71	11,0±1,89
CD8+ T	150,0±2,21	55,0±3,11
CD20+ B	11,5±0,91	4,2±0,61
Загальна кількість лімфоцитів	230,9±0,51	45,6±2,21
Сегментоядерні лейкоцити	3,2±2,11	0,74±0,31

Імуногістохімічні дослідження показали, що в лейкоцитарному інфільтраті при пародонтиті з явною перевагою представлені CD4+ та CD8+ T-лімфоцити (табл. 3.9). Це вказує на те, що автоімунні процеси при пародонтиті направлені на слинні залози, переважно, дрібні, що, в цілому, запускає патологічний процес [14, 15].

Висновки до розділу 3:

1. Фазові зміни сполучної тканини щурів у відповідь на місцеве пошкодження носять як локальний, так і генералізований характер.
2. Етапність процесів, що відбуваються у віддалених від вогнища запалення органах, відповідають класичній схемі розвитку запальної реакції: на ранніх строках – переважання ексудативних явищ, які на більш пізніх строках (дві доби) змінюються проліферацією.
3. Поряд з відповіддю з боку клітин імунної системи – лейкоцитів, макрофагів, тучних клітин, спостерігаються генералізовані зміни з боку клітин фібробластичного ряду – підвищення їх кількості, підвищення продукції колагену, зміни проліферативного

потенціалу. 4. Сполучна тканина пародонта активно реагує на скипидарне запалення шкіри спини щурів аналогічно сполучній тканині в інших органах. 5. Характерною гістологічною і імуногістохімічною ознакою при гінгівіті є пріоритетна участь у запаленні Т-лімфоцитів, сегментоядерних нейтрофілів та Т-лімфоцитарний периваскуліт. 6. При пародонтиті характерною морфологічною ознакою є пошкодження слинних залоз та перигранулярні інфільтрати.

Список використаних джерел у Розділі 3

1. Арташян О. С., Юшков Б. Г., Мухлынина Е. А. Изучение функциональной активности тучных клеток при иммобилизационном стрессе. *Цитология*. 2006. Т. 48, № 8. С. 665–668.

2. Атамана О. В. Патологія. Загальна патологія : підр. для студ. вищ. навч. закл. К. : Нова Книга, 2006. 592 с.

3. Бабаева А. Г. Регенерация и система иммунитета. М. : Медицина, 1985. 255 с.

4. Березнякова А. І., Черемісіна В. Ф., Жемела О. Д., Гученко Г. П. Сполучна тканина щурів та її реакція на гостре локальне запалення в різних органах. *Фізіологічний журнал*. 2018, Т. 64, № 2. С. 71–79.

5. Гусев Е. В., Черешнев В. А. Системное воспаление: теоретические и методологические подходы к описанию модели общепатологического процесса. Часть 1. Общая характеристика процесса. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2012. № 4. С. 3–14.

6. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико–биологических исследованиях с использованием Excel. К. : МОРИОН, 2000. 320 с.

7. Неиммунологические функции макрофагов / Б. Г. Юшков и др. *Медицинская иммунология*. 2011. С. 246–251.

8. Общие этические принципы экспериментов на животных: материалы I Национального конгресса по биоэтике, 2001. К. : НАНУ. 16 с.

9. Спосіб моделювання гінгівіту / А. П. Левицький, І. О. Селиванська, О. А. Макаренко, Л. М. Розсаханова, І. В. Ходаков // пат. 31011 Україна: МПК А61Р 31/00, А61К 35/56, А61С 7/00. № 200711608; заявл. 22.10.2007; опубл. 25.03.2008, Бюл. № 6. 3 с.

10. Сукманский О. И., Макаренко О. А. Экспериментальная модель генерализованного пародонтита. *Вісник стоматології*. 2006. № 2. С. 2–3.

11. Черемисина В. Ф. Воспаление – основной патологический процесс при заболеваниях пародонта. *Система повышения квалификации педагогических кадров в ВУЗах Узбекистана: опыт, приоритеты и перспективы развития* : научно-практ. конф. (Ташкент, 18 апреля 2018). Ташкент. С. 239.

12. Черемісіна В. Ф. Гістологічне дослідження м'яких тканини пародонта при експериментальному гінгівіті. *Інновації в медицині* : 87 науково-практ. конф. студентів та молодих вчених із міжнар. участю. (Івано-Франківськ, 22-23 берез. 2018). Івано-Франківськ. С. 114.

13. Черемісіна В.Ф. Запальний процес в пародонтиті: місцевий або генералізований процес організму? *Науково-практична конференція з міжнародною участю Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми»*. (Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019). Івано-Франківськ. С. 67-68.

14. Черемисина В. Ф. Иммуногенетические механизмы патогенеза воспалительных заболеваний мягких тканей пародонта. *Роль молодежи в развитии медицинской науки* : научно-практ. конф. молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с междун. участием посвященной «Году молодежи». (Душанбе, 28 апреля 2017). Душанбе. С.358.

15. Черемісіна В. Ф. Імуноморфологічні та імуногістохімічні показники сполучної тканини пародонта у щурів при пародонтиті та гінгівіті. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2018. Т. 18, № 2. С. 181–185.

16. Эллиниди В. Н., Аникиев Н. В., Максимов Н. А. Практическая иммуногистохимия : метод. рек. СПб., 2002. 36 с.

17. Cheremisina V. F. The role of connective tissue metabolic processes in the development of pathological processes at inflammation of different intensity in parodontium. *Journal of Education, Health and Sport*. 2018. Vol. 8, № 8. P. 1250–1254.
18. Gordon S., Taylor P. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat. Rev. Immunol.* 2005. Vol. 5. P. 953–964.
19. Human mast cells stimulate fibroblast proliferation, collagen synthesis and lattice contraction: a direct role for mast cells in skin fibrosis / E. Garbuzenko et al. *Clin. Exp. Allergy*. 2002. Vol. 32, № 2. P. 237–246.
20. Nickolskiy I. The reaction of the blood system in hypoxia and circulation of hematopoietic stem cells. *Environment and Health*. 2012. Vol. 2. P. 79–80.
21. Wagner D., Young V., Tannenbaum S. Mammalian nitrate biosynthesis: incorporation of $^{15}\text{NH}_3$ into nitrate is enhanced by endotoxin treatment. *Proc. Nat. Aced. Sci. USA*. 1983. Vol. 80. P. 4518–4521.
22. Zupan J., Komadina R., Marc J. The relationship between osteoclastogenic and anti-osteoclastogenic pro-inflammatory cytokines differs in human osteoporotic and osteoarthritic bone tissues. *Journal of Biomedical Science*. 2012. №. 19. P. 28–32.

РОЗДІЛ 4

РОЛЬ ОБМІНУ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ ТА ГОРМОНІВ В МЕХАНІЗМАХ РЕЗОРБЦІЇ ТА РЕМОДЕЛЮВАННЯ СПЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ ПАРОДОНТА

4.1. Значення кальцієво-фосфорного обміну в механізмах резорбції та ремоделювання тканин пародонта

Кальцій є одним із найбільш важливих для організму елементів, що входить до складу кристалів гідроксиапатиту і визначає механічні властивості кісток, використовується як засіб передачі внутрішньоклітинного сигналу, а також визначає активність ряду ферментативних систем, регулює клітинну адгезію і синтез гормонів [5, 7, 14, 16]. Внаслідок порушення кальцієвого обміну, серед яких переважають кальційдефіцитні стани, що відображається на функціонуванні різних органів і систем і може проявлятися різною симптоматикою [10, 24, 26]. Найбільш суттєва частина кальцію в організмі людини міститься в кістках і лише 1 % елементу входить до складу внутрішньоклітинної рідини. Доведена чітка кореляція між кількістю остеокластів в кістковій тканині та рівнем кальців в сироватці крові. Маркером високої функціональної активності остеокластів є високий рівень сукцинатдегідрогенази в цитоплазмі клітин [8, 16, 34]. Кальцитонін зменшує вміст кальцію і фосфору в крові, стимулює їх поступання в кістки, інгібує активність остеокластів і зменшує кількість остеобластів, котрі пригнічують кісткову резорбцію, підвищує екскрецію з сечею фосфора, калія, магнія і води і стимулює перетворення неактивної форми вітаміну D₃ в нирках в активну [17, 31, 36]. Кальцитонін пригнічує розпад колагену та вихід мінеральних компонентів із матриксу кістки [6, 30]. Таким чином, різнонаправлена дія паратгормону і кальцитоніну сприяє підтриманню постійної концентрації іонів кальцію (Ca²⁺) в крові. Кісткова втрата може розвиватися внаслідок впливу різних факторів, що впливають на рівень паратгормону, підсилюючи резорбцію в кістковій тканині [29, 33, 38, 40].

Аналіз порушень біохімічних маркерів кісткового метаболізму після клінічного прояву альвеоліту і мікробної контамінації лунок зубів, котрі видалили, показав, що зсуви показників кальцій-фосфорного обміну у щурів з альвеолітом (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Показники кальцій-фосфорного обміну у щурів з альвеолітом ($X \pm S_x$)

Показник	Норма	Щури з альвеолітом	Коливання змін
в сироватці крові			
Са, ммоль/л	2,09±0,05(2,0 – 2,5)	1,85±0,08	1,65 - 2,52*
Са іонізований, ммоль/л	1,15±0,08 (1,09 – 1,29)	0,92±0,05	0,78 - 1,77*
Р, ммоль/л	0,93±0,04 (0,81 – 1,45)	1,67±0,07	0,78 – 3,12*
Паратгормон, пг/мл	24,8±7,5 (10 – 69)	4,85±1,23	3,7 – 33,2*
Кальцитонін, пг/мл	10,3±1,2 (3 – 19)	1,9±0,3	< 2,0*
Остеокальцин, пг/мл	5,7±0,8 (2 – 22)	5,8±1,2	1,1 – 7,8
в добовій сечі			
Са, ммоль/л	2,63±0,35	5,44±0,4	4,0 – 6,1*
Р, ммоль/л	1,35±0,09	17,1±0,5	9,1 – 20,2*

Примітка. * - $p < 0,05$ відносно показників інтактної групи; $n=20$ тварин в кожній групі.

Було зареєстровано недостовірне зниження вмісту Са в крові (1,85±0,08 ммоль/л, при нормі 2,09±0,05 ммоль/л), коливання 1,65 - 2,52 ммоль/л. Індивідуальний аналіз кожного щура показав, що в більшості щурів (17 – 73,6 %) рівень Са в крові знижувався, у 3 щурів (26,4 %) його вміст залишався в межах норми. При цьому у щурів з гіпокальціємією на початку експеримента спостерігали ознаки перифокального запалення (гіперемія, локальний набряк ясен), що потребує застосування протизапальної терапії. Враховуючи наявність в організмі щурів великого депо кальцію у вигляді кристалів гідроксиапатиту, в кістках або відбувається вивільнення кальція із депо, або,

навпаки, його зв'язування. Цей процес відіграє важливу роль в регуляції концентрації іонів кальцію в крові. Так, рівень іонізованного Са в крові щурів з альвеолітом складав, в середньому, $0,92 \pm 0,05$ ммоль/л (при нормі $1,15 \pm 0,08$ ммоль/л; $p < 0,05$). Необхідно відмітити, що у більшості щурів (19 щурів – 54,7 %) його вміст був вище норми в 1,3 – 1,9 рази ($p < 0,05$), у одного щура (14,5 %) – помірно знижувався (в 1,2 – 1,4 рази; $p < 0,05$), у решти – рівень вільного Са не виходив за межі референтної норми. Враховуючи особливу важливість концентрації внутрішньоклітинного кальцію для функціонування багатьох клітин та тканин організму, його концентрація регулюється в досить низьких межах [14]. За класичними уявленнями головна роль в цьому процесі належить паратгормону [16]. Концентрація паратгормону в крові щурів з альвеолітом, в середньому, складала $4,85 \pm 1,23$ пг/мл, що в 5,11 рази менше норми (при нормі $24,8 \pm 7,5$ пг/мл; $p < 0,01$). При індивідуальному аналізі встановлено, що лише в 14 щурів (26,4 %) концентрація цього гормону не виходила за межі нормальних значень, у решти – концентрація паратгормону знижувалася. Синтез гормону може стимулювати підвищена концентрація фосфору, причому паратгормон пригнічує реабсорбцію кальція, активує остеобласти і опосередковано стимулює формування остеобластів і їх активність. У експериментальних тварин вміст неорганічного фосфору в крові був підвищений, відносно норми, в 1,38 рази ($p < 0,05$). З регуляцією обміну Са пов'язана головна функція кальцитоніну, гормону, що синтезується С-клітинами щитоподібної залози, є самим потужним інгібітором кісткової резорбції [36]. Концентрація кальцитоніну в крові щурів з альвеолітом дорівнювала, в середньому, $1,9 \pm 0,3$ пг/мл, тобто, була знижена в 5,42 рази (при нормі $10,3 \pm 1,2$ пг/мл, $p < 0,01$). При цьому у всіх тварин його концентрація не перевищувала 2,0 пг/мл. Встановлено негативний кореляційний взаємозв'язок між рівнем вільного (іонізованного) Са і вміст кальцитоніну в сироватці крові ($r = -48$). В експерименті доведено, що коливання концентрації цього гормону майже не впливають на розвиток кісткової системи. Однак, помірне зниження

кальцитоніну в крові може продовжувати період формування лунки після видалення зуба при поступанні неорганічного кальцію в організмі. В експерименті у щурів рівень Са і неорганічного Р в добовій сечі був суттєво вищим. Концентрація Са в добовій сечі була вище норми в 2,07 рази і складала $5,44 \pm 0,4$ ммоль/л (при нормі $2,63 \pm 0,35$ ммоль/л; $p < 0,001$). Рівень неорганічного Р у щурів з альвеолітом був підвищеним 11,8 рази відносно норми ($1,35 \pm 0,09$ ммоль/л; $p < 0,05$). Таким чином, у щурів відмічалось наростання концентрації неорганічного фосфору в крові, а також кальцію і неорганічного фосфору в сечі [19, 20, 23].

4.2. Особливості обміну міді та цинку в периферичній крові щурів при гінгівіті та пародонтиті

Відомо, що мідь та цинк беруть участь в багатьох біохімічних процесах в організмі. Їх роль в фізіології пародонту визначається участю в ферментативних процесах як активаторів чи складової частини активного центру ферментів [1, 4]. В літературі [2, 9] є дані про роль цих мікроелементів в процесах росту та дозрівання сполучної тканини. Нами вивчені особливості обміну міді та цинку у щурів з гінгівітом та пародонтитом. Встановлено, що в крові щурів з гінгівітом вміст міді збільшувався в 1,4 рази відносно контролю та складав $22,48 \pm 0,59$ мкмоль/л при нормі $18,7 \pm 0,56$ мкмоль/л ($p < 0,05$) (табл. 4.2). В 75 % випадків контрольної групи щурів рівень міді знаходився в межах 15 – 21 мкмоль/л, а в 25 % тварин – 21 – 24 мкмоль/л. У 30 % щурів з гінгівітом вміст міді знаходився в межах норми – 15 – 21 мкмоль/л, у 24 % - від 21 до 24 мкмоль/л, у 36 % - вміст міді був підвищеним – 24 – 27 мкмоль/л. У 10 % щурів концентрація міді в плазмі крові різко підвищувалась (більше 27 мкмоль/л). Таким чином, вміст міді в плазмі крові тварин підвищувався в 46 % щурів. В той же час у 54 % тварин значення цього показника відповідали аналогічним показникам контрольної групи. У щурів з пародонтитом вміст міді був в межах норми – $19,98 \pm 0,64$ мкмоль/л ($p < 0,05$) (табл. 4.2). Однак, у 20 % щурів рівень міді в плазмі крові був різко підвищеним (від 24 до 27 мкмоль/л), а у

80 % - знаходився в межах 15 – 24 мкмоль/л. Таким чином, у щурів з пародонтитом в перші 5 діб експерименту спостерігали підвищення вмісту міді в плазмі крові. В літературі описані ефекти, пов'язані із недостатністю міді [11, 12, 18]. При дефіциті міді в організмі знижується активність такого мідьзалежного ферменту, як лізілоксидаза, який відіграє головну роль в формуванні колагенових фібрил за рахунок утворення поперечних зв'язків. При цьому може інгібуватися активність і іншого мідьвмісного ферменту – супероксиддисмутази, який відповідає за інгібування процесів перекисного окиснення ліпідів мембран клітин [13, 15].

Таблиця 4.2

Вміст міді та цинку в периферичній крові у щурів з гінгівітом та пародонтитом ($X \pm S_x$, n=20)

Групи тварин	Мідь	Цинк
Контроль	18,7±0,56 мкмоль/л	30,75±0,39 мкмоль/л
Щури з гінгівітом	19,98±0,64 мкмоль/л	20,03±1,36* мкмоль/л
Щури з пародонтитом	22,48±0,59* мкмоль/л	26,69±0,32* мкмоль/л

Примітка. * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою тварин.

Дефектний синтез колагену добре відомий прояв дефіциту міді, який супроводжується ламкістю кісток та деформацією скелету у тварин та при деяких захворюваннях у людини (латиризм, синдром Елерса-Данло, синдром Марфана та ін.). В кістковій тканині при дефіциті міді спостерігається підвищений вміст розчинного колагену (тропоколагену) та знижена кількість альдегідних груп, що свідчить про порушення процесів утворення міцних поперечних зв'язків між окремими молекулами тропоколагену для формування колагенових фібрил [3, 39]. Тому можна припустити, що підвищення рівня міді також призведе до змін процесів дозрівання колагену. Підвищення вмісту міді може прискорити дозрівання колагену та знижувати концентрацію розчинного тропоколагену за рахунок включення його в щільні поперечнозшиті структури нерозчинного колагену, характерного для склерозу. А. М. Герасимов та Л. Н. Фурцева (1998 р.) вказують на те, що

надлишок міді гальмує проліферацію клітин сполучної тканини та прискорює дозрівання протеогліканів. Мідь володіє вираженими протизапальними властивостями, пом'якшує прояви автоімунних захворювань, концентрація міді в крові підвищується при гострих та хронічних запальних захворюваннях. Тому розвиток гіперкупремії, можливо, можна розглядати як компенсаторну реакцію у відповідь на дію пошкоджуючих факторів. Таким чином, можна припустити, що порушення обміну міді у тварин з гінгівітом є патогенетичним і, можливо, у деякій мірі відображає розвиток склеротичних змін у пародонті [39]. Вміст цинку в плазмі крові був знижений у щурів обох груп, причому найбільш виражено (в 1,4 рази) у щурів з пародонтитом. У тварин з гінгівітом середній рівень цинку в плазмі крові складав $26,69 \pm 0,32$ мкмоль/л ($p < 0,05$), у тварин з пародонтитом – $21,73 \pm 1,36$ мкмоль/л ($p < 0,05$). В нормі рівень цинку складав $30,75 \pm 0,39$ мкмоль/л (в 65 % випадків – 30 – 35 мкмоль/л, в 35 % - 25 – 30 мкмоль/л). У більшості (83 %) щурів з гінгівітом вміст цинку знаходився в межах 25 – 30 мкмоль/л, значень в межах 30 – 35 мкмоль/л, відповідних максимуму для контрольної групи, не спостерігали. У групі щурів з пародонтитом (у 40 %) вміст цинку в крові складав 25 – 30 мкмоль/л, у 60 % - 10 – 25 мкмоль/л, що відповідало зниженню концентрації цинку в крові в 2 – 2,5 рази. Таким чином, у тварин рівень цинку в крові був зниженим та найбільш виражені зміни спостерігали в групі щурів з гінгівітом. Причому, гіпоцинкемія наростала пропорційно тяжкості клінічних проявів (погіршувався загальний стан, скуйовджувалась шерсть, був відсутній апетит). Наші дані про розвиток гіпоцинкемії узгоджуються з результатами досліджень інших авторів [39]. Дефіцит цинку може мати суттєве значення в механізмі розвитку остеопорозу. Достатня кількість в організмі іонів цинку є дуже важливим фактором, який забезпечує репаративну функцію сполучної тканини (замісна регенерація) [18]. При загоєнні ран цинк обумовлює стабілізуючу дію на цитоплазматичні мембрани, перешкоджаючи вивільненню гідролітичних ферментів, таких як: катепсин Д та колагеназа,

які контролюють швидкість розпаду пошкоджених тканих [11, 13]. Можна припустити, що дефіцит цинку внаслідок підвищеного вивільнення протеолітичних ферментів призводить до підвищення швидкості розпаду сполучної тканини та накопиченню продуктів деградації, які в свою чергу підсилюють ріст та диференціювання фібробластів, продукцію колагену та фібрилогенез. Згідно гіпотези Серова В. В. та Шехтер А. Б. [18] деградація знову синтезованого колагену відіграє головну роль в регуляції його утворення. Можливо, що при низькому рівні цинку пошкоджуються ферментативні окисно-відновні процеси в тканинах, розвивається тканнна гіпоксія, що ще в більшій мірі прискорює склеротичні процеси. Дефіцит цинку сприяє підвищенню проникності клітинних мембран, посилює порушення білкового обміну, призводить до зниження вмісту чи активності ряду цинкзалежних ферментів та метаболічних порушень [39]. Враховуючи розвиток вираженої гіпоцинкемії в перші 5 діб експерименту при обох патологіях, її наростання по мірі прогресування гінгівіту та пародонтиту, можна припустити, що порушення метаболізму цинку має значення в розвитку цих захворювань. Таким чином, результати проведених експериментів вказують на виражені порушення обміну мікроелементів: міді та цинку при захворюваннях м'яких тканин пародонту. Причому, зміни їх вмісту виникають вже на ранніх стадіях патологічних процесів. Вірогідно, зміни концентрації цих мікроелементів призводять до виникнення визначеного біохімічного стану, при якому відбувається розвиток патологічного процесу. Можна припустити, що порушення їх метаболізму має патогенетичне значення в розвитку порушень кісткової тканини пародонта [22].

4.3. Вивчення ролі гормонального статусу щурів у механізмах формування захворювань пародонта

Більшість захворювань людини супроводжуються вираженими порушеннями гормонального статусу. Літературні дані вказують на порушення обміну глюкокортикоїдів, паратиреоїдного гормону (ПТГ),

кальцитоніну, статевих гормонів та ін. [16, 17, 28, 32, 35, 37]. Ці гормони, в свою чергу, є модуляторами обміну сполучної тканини (СТ) і, можливо, відіграють роль в розвитку склеротичних змін. Свідчень ролі гормонів в патогенезі захворювань тканин пародонту в доступній нам літературі ми не зустріли. Нами вивчені показники рівнів паратиреоїдного гормону і кальцитоніну в крові щурів експериментальних груп. В щурів при гінгівіті та альвеоліті виявлені наступні закономірності (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Рівень паратиреоїдного гормону і кальцитоніну в крові щурів при моделюванні захворювань пародонта ($\bar{X} \pm S_x$)

Групи тварин	ПТГ	Кальцитонін
Інтактний контроль	7,85±1,03	8,81±0,85
Щури з альвеолітом	4,48±0,68 ^{*/**}	10,80±1,44
Щури з пародонтитом	11,30±3,12	9,18±0,51
Щури з гінгівітом	14,20±7,51 [*]	8,38±1,03

Примітки: * - $p < 0,05$ відносно показників контрольної групи; ** - $p < 0,05$ відносно показників групи тварин з гінгівітом; $n=20$ тварин в кожній групі.

Встановлено достовірне підвищення рівня паратиреоїдного гормону у щурів з гінгівітом порівняно з контролем в 1,8 рази. Рівень паратиреоїдного гормону в групі тварин з пародонтитом також був вище контролю в 1,4 рази, а у щурів з альвеолітом рівень цього гормону знижувався в 1,75 рази по відношенню до контролю. При порівнянні рівнів ПТГ у тварин експериментальних груп між собою достовірні відмінності виявлені між групою щурів з альвеолітом та щурів з гінгівітом. У щурів з пародонтитом він був вище ($p < 0,05$). По рівню паратиреоїдного гормону експериментальні групи можна розмістити таким чином: найменшу концентрацію ПТГ ми спостерігали в групі щурів з альвеолітом, більш високу – у щурів з пародонтитом і саму високу – у щурів з гінгівітом. По підвищенню рівня кальцитоніну порядок значень був зворотній. Найвищий рівень

паратиреоїдного гормону у щурів з гінгівітом, можливо, свідчить про посилення порушень в кістковій тканині пародонта, активації остеокластів і резорбції. Найнижчий рівень ПТГ ми спостерігали у щурів з альвеолітом. Це також свідчить про порушення метаболізму кісткової тканини і в цьому випадку вказує на напруженість адаптаційних механізмів організму та вичерпуванні резервів адаптації. Підвищений рівень кальцитоніну в цій групі, можливо, свідчить про особливий характер порушень в лунці після екстракції зуба. Найнижчий рівень кальцитоніну в групі щурів з гінгівітом може бути показником того, що процес ініціюється іншими механізмами, що відрізняються від таких в групах з більш високим рівнем гормону. Очевидно, можна говорити про виявлену закономірність підвищення рівня паратиреоїдного гормону в ряду використаних експериментальних моделей і про створення патогенетических механізмів порушення обміну сполучної тканини пародонта. Аналогічна, але зворотна зі знаком, кореляція була виявлена при дослідженні рівня кальцитоніну при альвеоліті, пародонтиті і гінгівіті.

Визначення рівня циркулюючого естрадіолу проводили в сироватці тулубної крові щурів [27]. З огляду на добовий ритм інкреції більшості гормонів, декапітацію тварин здійснювали в ранкові години (9-11 год) та методом імуноферментного аналізу (набори фірми Brahms – Німеччина і DBC – Канада, аналізатор «Тесап» - Австрія) визначали вміст у крові естрадіолу. У порівнянні з вивченими раніше гормонами, концентрація в крові щурів як у інтактної групи тварин, так і при захворюваннях, залишалася практично на рівні контролю: у інтактних щурів його концентрація в крові становила $1,90 \pm 0,20$ нмоль/л, при пародонтиті – $1,88 \pm 0,23$ нмоль/л, при гінгівіті – $1,86 \pm 0,21$ нмоль/л, при альвеоліті – $1,88 \pm 0,18$ нмоль/л. Зменшення показників концентрації естрадіолу в крові щурів при пародонтиті та гінгівіті статистично недостовірно ($p > 0,05$). Отже, можна зробити висновок, що естрадіол не впливає на процеси резорбції та ремоделювання сполучної тканини при запальних захворюваннях пародонта

[21]. Таким чином, отримана послідовність експериментальних моделей відображає значення гормонального фактору в патогенетичних механізмах розвитку порушень метаболізму сполучної тканини. Оскільки паратиреоїдний гормон є одним із модуляторів обміну СТ, зміни його вмісту в крові можуть характеризувати один із механізмів регулювання обміну СТ і одним із механізмів розвитку захворювань тканин пародонта [25].

Для об'єктивної оцінки стану кісткової тканини у щурів із захворюваннями пародонта, ми вимірювали щільність кісткової тканини при кожній патології окремо. Встановлено, що порівняно з контрольною групою із середнім значенням $1,62 \text{ г/см}^3$ цей параметр у щурів з альвеолітом знижувався до $1,41 \text{ г/см}^3$ ($p < 0,05$). В групі тварин з пародонтитом при дослідженні щільності кісткової тканини було встановлено її достовірне зниження ($1,43 \pm 0,04 \text{ г/см}^3$) порівняно з групою інтактного контролю ($p < 0,05$), що підтверджує порушення ремоделювання кісткової тканини в цій групі. Відношення маси кісткової тканини до діаметра проби, взятої для дослідження у щурів з альвеолітом було менше, ніж в контролі ($p < 0,05$). У тварин з гінгівіом значення цього параметру не відрізнялось від значень щурів контрольної групи ($p < 0,05$). Проведена морфологічна верифікація вивчених тканин дозволила виявити деструктивні зміни в СТ експериментальних тварин, серед яких зниження відносної площі трабекул та розширення міжтрабекулярного простору є головним симптомом розвитку патологічних змін в пародонті.

Висновки до розділу 4:

1. Одержані результати свідчать про те, що протягом 2-х тижнів захворювання в процесі резорбції тканин пародонта включаються процеси ремоделювання, найбільш виражені у щурів з пародонтитом. 2. Аналіз вивчення біохімічних маркерів кісткового метаболізму виявив значні зсуви кальцій-фосфорного обміну у щурів з альвеолітом та його участь в резорбції сполучної тканини пародонта. 3. Визначення рівней паратиреоїдного гормону (ПТГ), кальцитоніну та естрадіолу в крові щурів із захворюваннями

тканин пародонта свідчать про значення гормонального фактору в патогенетичних механізмах розвитку порушень метаболізму сполучної тканини пародонта. Однак, вміст кальцитоніну та естрадіолу не має вирішального значення в механізмах резорбції м'яких тканин пародонта.

4. Зміни рівня паратиреоїдного гормону в крові щурів у напрямку нормалізації буде свідчити про покращення сполучної тканини при хворобах пародонта.

5. Встановлений негативний кореляційний взаємозв'язок між рівнем іонізованого кальцію і вмістом кальцитоніну в сироватці крові у щурів з альвеолітом. 6. Гіпокупремія та гіпоцинкемія, практично, не обтяжує процеси резорбції сполучної тканини у щурів з пародонтитом. 7. Гіпокупремія у щурів з гінгівітом може гальмувати проліферацію клітин сполучної тканини та прискорювати процес дозрівання протеогліканів. 8. Іони міді є необхідним матеріалом, як в процесі резорбції, так і в процесі ремоделювання при захворюваннях пародонта. 9. Одним із головних симптомів розвитку захворювань тканин пародонта є морфологічне зниження відносної площі трабекул та розширення міжтрабекулярного простору.

Список використаних джерел у Розділі 4:

1. Бабенко Г. А., Решетника Л. П. Применение микроэлементов в медицине. К., 1971. 220 с.

2. Вийголовская Я. И., Логинский В. Е., Мазурок А. А. Гематологические синдромы в клинической практике. К. : Здоровье, 1981. 296 с.

3. Гаджиев Ф. С. Микроэлементы в патогенезе и лечении хронического бронхита (клинико-экспериментальное исследование). *Терапевтический архив*. 1991. Т. 63, № 3. С. 68–72.

4. Герасимов А. М., Фурцева Л. Н. Биохимическая диагностика в травматологии и ортопедии. М., 1986. 235 с.

5. Жиляев Е. В., Глазунов А. В., Глазунов П. А. Клиническое значение и нарушение кальциевого обмена. *Клиническая медицина*. 2016. №

4. С. 13–17.

6. Жулев Е. Н., Кочубейник А. В., Лапшин Р. Д. Экспериментальное моделирование воспалительных заболеваний пародонта. *Фундаментальные исследования*. 2015. № 1-4. С. 744–747.

7. Корж Н. А., Дедух Н. В. Факторы риска остеопороза. *Международный медицинский журнал*. 2007. № 2. С. 70–74.

8. Котельников Г. П., Кирилюк И. П., Шейхман А. Г. Лучевая диагностика остеопороза: современное состояние и перспективы. *Клиническая геронтология*. 2003. № 4. С. 32–36.

9. Криворучко И. В., Криворучко В. И. Особенности течения и исхода беременности у женщин с анемией на фоне недостаточности цинка. *Физиология человека*. 1997. Т. 23, № 29. С. 82–84.

10. Мартинюк Л. П., Ружицька О. О. Показники кальцієво-фосфорного обміну у хворих із хронічними хворобами нирок, які перебувають на програмному гемодіалізі. *Український журнал нефрології та діалізу*. 2017. № 3 (31). С. 11–16.

11. Мжельская Т. И. Определения содержания меди, железа и цинка в сыворотке крови с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра «Спектр». *Лабораторное дело*. 1976. № 4. С. 229–232.

12. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А. П. Авцын и др. М., 1991. 496 с.

13. Мусил Я. Н. Основы биохимии патологических процессов. М., 1985. 432 с.

14. Нейко Є. М., Головач І. Ю., Митник З. М. Клінічні, інструментальні і лабораторні методи діагностики остеопорозу. Івано-Франківськ, 2001. 54 с.

15. Пиелонефрит / А. В. Люлько и др. К. : Здоровье, 1989. 279 с.

16. Поворознюк В. В. Остеопороз та біохімічні маркери метаболізму кісткової тканини. *Лабораторна діагностика*. 2002. № 1. С. 53–59.

17. Подковкин В. Г., Иванов Д. Г., Иванов Г. А. Влияние постоянного

магнитного поля на состояние костной ткани крыс с повышенным уровнем резорбции. *Успехи современного естествознания*. 2008. № 7. С. 13–16.

18. Серов В. В., Шехтер А. Б. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология. М. : Медицина, 1981. 312 с.

19. Черемисина В. Ф. Роль кальциево-фосфорного обмена в резорбции мягких тканей пародонта у крыс. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 4. P. 903–909.

20. Черемісіна В. Ф. Біохімічні зміни сполучної тканини при патологічних процесах. *Бюллетень XVI чтений им. В.В.Подвысоцкого* (Одеса, 24-25 травня 2018). Одеса. С. 160–162.

21. Черемісіна В. Ф. Вплив гормонального гомеостазу у щурів при запальних захворюваннях пародонту на процеси резорбції та ремоделювання. *Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики* : VII Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячених 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н.Зайка. (Полтава, 11-12 жовтня 2018). Полтава. С. 122.

22. Черемісіна В. Ф. Особливості обміну міді та цинку в периферичній крові щурів із захворюваннями м'яких тканин пародонту. *Світ медицини та біології*. 2017. № 1 (59). С.148–151.

23. Черемісіна В. Ф. Стан метаболітів сполучної тканини при захворюваннях м'яких тканин пародонта. *Інновації в медицині: досягнення молодих вчених* : 40-ва ювілейна наук.-практ. конф. молодих вчених НМАПО імені П.Л.Шупика з міжнар. участю, присвяченої дню науки (Київ, 18 травня 2017). Київ. С. 120.

24. Экспериментальное исследование метаболизма костной ткани и механизмов регуляции минерального гомеостаза в динамике развития токсической фтористой остеопатии / Т. В. Ядыкина и др. *Медицина в Курбасе*. 2018. Т. 17, № 1. С. 17–24.

25. Berezniakova A. I., Cheremisina V. F. Identification of Hormonal Status in Rats' Blood with Diseases of Soft Tissues of Parodontium. *European International Journal of Science and Technology*. 2017. Vol. 6, № 4. P. 1–5.
26. Cheung W. W., Zhan J. Y., Paik K. H. The impact of inflammation on bone mass on children. *Pediatr. Nephron*. 2017. Vol. 26, №. 11. P. 1937–1943.
27. Early estrogen-induced gene 1, a novel RANK signaling component, is essential for osteoclastogenesis / H. K. Choi et al. *Cell Res*. 2018. Vol. 23, №. 4. P. 524–536.
28. Eiken M., Kordam M., Van Driel M. The essential role of glucocorticoids for proper human osteoblast differentiation and matrix mineralization. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2016. Vol. 248. P. 87–93.
29. Elevated levels of plasma osteoprotegerin are associated with all-cause mortality risk and atherosclerosis in patients with stages 3 to 5 chronic kidney disease / M. M. Nascimento et al. *Braz. J. Med. Biol. Res*. 2014. Vol. 22. P. 1–8.
30. FGF-23 and osteoprotegerin are independently associated with myocardial damage in chronic kidney disease stages 3 and 4. A Nether link between chronic kidney disease-mineral bone disorder and the heart / M. L. Ford et al. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2016. Vol. 27, №. 2. P. 727–733.
31. Gal-Moscovici A., Sprague S. M. Bone health in chronic kidney disease mineral and bone disease. *Adv. Chronic Kidney Dis*. 2007. Vol. 14, № 1. P. 27–36.
32. Hakeda Y. Action of glucocorticoid on bone formatting and bone resorbing cells. *Clin. Calcium*. 2016. Vol. 16, №. 11. P. 1817–1822.
33. Increased circulating levels of osteoclastogenesis inhibitory factor (osteoprotegerin) in patients with chronic renal failure / J. J. Kazama et al. *Am. J. Kidney Dis*. 2002. Vol. 39, № 3. P. 525–532.
34. Jia D., O'Brien C. A., Stewart S. A. Glucocorticoids act directly on osteoclasts to increase their life span and reduce bone density. *Endocrinology*. 2016. Vol. 147. P. 5592–5599.
35. Kuchuk N. O., Van Schoor N. M., Pluijm S. Vitamin D status,

parathyroid function, bone turnover and BMD in postmenopausal women with osteoporosis: global perspective. *J. Bone Miner. Res.* 2009. Vol. 4. P. 693–701.

36. Lewis R. Mineral and bone disorders in chronic kidney disease: new insights into mechanism and management. *Ann. Clin. Biochem.* 2017. Vol. 49, №. 5. P. 432–440.

37. Rejnmark L., Avenel A., Masud T. Vitamin D with calcium reduced mortality: patient level pooled analysis of 70 528 patients from eight major vitamin D trials. *J. Clin. Endocrin. Metab.* 2012. Vol. 8. P. 2670–2681.

38. Serum osteoprotegerin measurement for early diagnosis of chronic kidney disease-mineral and bone disorder / J. Q. Jiang et al. *Nephrology.* 2017. Vol. 39, №. 3. P. 525–532.

39. Sorenson I. R., Kishore U. Trace elements in medicine. *New York.* 1984. Vol. 1. P. 93–102.

40. The RANKL / OPG system is activated in inflammatory bowel disease and relates to the state of bone loss / A. R. Moschen et al. *Gut.* 2015. Vol. 54. P. 479–487.

РОЗДІЛ 5

ВИВЧЕННЯ КИСЛОТНО-ОСНОВНОГО СТАНУ КРОВІ ТА ЗМІШАНОЇ СЛИНИ ПОРОЖНИНИ РОТА У ЩУРІВ ІЗ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ПАРОДОНТА

5.1. Кислотно-основний стан слини порожнини рота щурів – індикатор захворювання тканин пародонта

Підтримка гомеостазу в порожнині рота залежить від стабільності життєвих функцій організму в цілому [7, 27]. Порушення кислотно-лужного балансу є показником багатьох патологічних змін, які безпосередньо впливають на стан м'яких тканин пародонту, функції органів щелепно-лицьової області, порожнини рота тощо [1, 2, 9]. Від цього показника в крові та порожнині рота залежать нейтралізуючі та мінералізуючі властивості слини, активність ротової мікрофлори, градієнт та швидкість іонообмінних процесів [10, 26]. Тому важливим є вивчення кислотно-лужного стану не тільки в крові, а й в змішаній слині ротової порожнини у щурів із захворюваннями тканин пародонту. Відомо також, що механізм слиновиділення здійснюється вегетативною нервовою системою – симпатичною та парасимпатичною – за участі гіпоталамуса. Медіатором симпатичної нервової системи є норадреналін, а парасимпатичної – ацетилхолін. Встановлено, що активація симпатичної нервової системи пригнічує генерацію слини (в основному, водної частини). При цьому слини виділяється дуже мало та вона в'язка. Активація парасимпатичної нервової системи підвищує активність слинних залоз з утворенням більш великої кількості рідкої слини [3, 11, 24]. Вегетативна дисфункція виражається в симпатико- та парасимпатикотонії із тенденцією до переважання останньої, що призводить до зміни мікроциркуляторного русла та показників коагуляції, порушенню секреторної активності слинних залоз, активації перекисного окиснення ліпідів, індукції лізосомальних ферментів, інтенсифікації гліколізу, зниженню енергетичного потенціалу клітин, послабленню колонізаційної резистентності тканин пародонту, що, в кінцевому рахунку,

знаходить відображення у змінах базових біохімічних показників ротової порожнини – кислотно-основного стану (КОС) та кальцій-фосфорної рівноваги (КФР) [4, 5, 8, 17]. Основним показником КОС порожнини рота є рН слини, яка в нормі коливається в межах від 6,86 до 7,50 [13]. В субклінічний період запальних захворювань пародонту, коли фонові показники рН змішаної слини (ЗС) можуть ще не виходити за межі фізіологічної норми, тільки за допомогою тестових навантажень можливо виявити, чи здатні механізми утримувати рН слини в межах фізіологічних значень або адаптаційні резерви вичерпані [17]. При цьому відхилення рН ЗС може відображати дисбаланс мікрофлори ротової порожнини, що сформувався, який проявляється у підвищенні активності кислотопродукуючої та уреазопозитивної мікрофлори [12, 17].

Характеристикою КФР ротової порожнини є кальцій-фосфорне співвідношення (КФС), яке в нормі складає 0,3 – 0,4 [6]. КФС дорівнює співвідношенню масових (г/л) чи молярних (М) концентрацій кальцію та неорганічного фосфату в ЗС, при якому останній спосіб є переважним, оскільки характеризує стехіометрію КФР. Концентрація кальцію ЗС в нормі варіює в межах 0,6 – 2,8 мМ, неорганічного фосфату – 2,9 – 6,4 мМ [2, 4, 5, 6, 12, 13]. В умовах експериментального гінгівіту, альвеоліту та пародонтиту [14, 19, 20, 25] у щурів на першу добу експерименту ми спостерігали розвиток метаболічного ацидозу в крові зі зменшенням рН і зсувом буферних основ у кислий бік. Показник рН при усіх захворюваннях знизився на 1,02 відповідно в порівнянні зі щурами інтактної групи, буферні основи при гінгівіті на 1,14, при альвеоліті – на 1,15, при пародонтиті – на 1,28; рівень стандартного бікарбонату – на 1,23 при гінгівіті, при альвеоліті – на 1,24, при пародонтиті – на 1,26 (табл. 5.1). Одержані результати свідчать про те, що зсув рН навіть на 0,1 в кислий чи лужний бік є сигналом значних порушень гомеостазу ротової рідини.

Таблиця 5.1

Зміни показників кислотно-основного стану крові у щурів із захворюваннями тканин пародонту в експерименті ($X \pm S_x$), n=20

Показники		Інтактні щури	Контрольна патологія: показники КОС через добу після початку експерименту			Контрольна патологія: показники КОС через 7 днів експерименту		
			гінгівіт	альвеоліт	пародонтит	гінгівіт	альвеоліт	пародонтит
рН		7,5±0,01	7,3±0,01*	7,3±0,01*	7,2±0,01*	7,4±0,02*	7,4±0,02*	7,3±0,01*
ВВ (буферні основи), ммоль/л		46,3±0,25	40,4±0,45*	40,1±0,02*	36,1±0,02*	45,8±0,03	46,1±0,26	45,2±0,03*
SB (стандартний бікарбонат), моль/л		23,7±0,50	19,2±0,24*	19,1±0,09*	18,8±0,08*	22,6±0,42	23,0±0,6	22,2±0,42
BE (надлишок або дефіцит основ), ммоль/л		+0,9±0,02	-8,6±0,07*	-8,3±0,67*	-8,1±0,71*	+0,9±0,06	+0,9±0,04	+8,9±0,04
Парціальний тиск	pCO ₂ мм рт. ст.	42,2±0,44	40,3±0,41*	40,2±0,80*	40,2±0,80*	40,1±0,79*	41,9±1,0	42,1±0,5
	pO ₂ , мм рт. ст	92,8±0,66	97,5±0,54*	97,2±1,2*	98,1±1,11*	94,0±2,4	93,2±2,3	96,2±1,8

Примітка. * - $p < 0,05$ відносно показників інтактної групи.

Окрім цього, нами відмічено, що в артеріальній крові напруження кисню зростало як при гінгівіті, так і при альвеоліті та пародонтиті, а напруження вуглекислого газу, навпаки, знижувалося. Через 7 днів експерименту спостерігали поступове відновлення кислотно-основного стану як при гінгівіті, альвеоліті, так і при пародонтиті. Так, показник рН підвищувався при гінгівіті на 1,02, при альвеоліті – на 1,0, при пародонтиті – на 1,0; буферні основи – при гінгівіті, альвеоліті та пародонтиті були однаковими; стандартний бікарбонат збільшувався у тварин з гінгівітом на 1,18, у щурів з альвеолітом на 1,04, у щурів з пародонтитом – на 1,0. Дефіцит буферних основ та рН крові при усіх патологіях набували також позитивних значень до кінця експерименту та не мали статистично вірогідної відмінності в порівнянні з даними інтактного контролю (табл. 5.1). Аналізуючи одержані результати, ми прийшли до висновку, що для характеристики кислотно-основного стану організму щурів недостатньо визначення КОС крові, необхідно також співставити КОС ЗС порожнини рота з динамікою процесів при захворюваннях пародонту, в тому числі при тестових навантаженнях (при карбамидному та цукровому навантаженні).

Тому наступним етапом експерименту є співставлення динаміки рН, концентрації кальцію та неорганічного фосфату в ЗС при тестових навантаженнях [15, 16]. При цукровому навантаженні (рис. 5.1) в порівнянні з контрольною групою у групі щурів з гінгівітом ми спостерігали вірогідне підвищення концентрації неорганічного фосфату, що на фоні відсутності достовірних відмінностей концентрації кальцію призводило до зниження КФС та порушення ремінералізуючої функції слини [21, 22]. В групі щурів з пародонтитом відбувалося статистично вірогідне наростання вираженості цих змін. Окрім цього, ми спостерігали зниження рН та концентрації кальцію в ЗС. Це свідчить про єдність ряду патогенетичних механізмів порушення мінерального обміну порожнини рота та нерозривності переходу запальних захворювань пародонта [22].

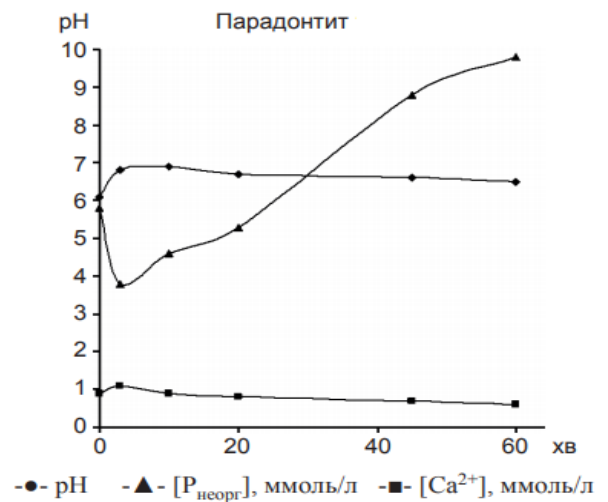
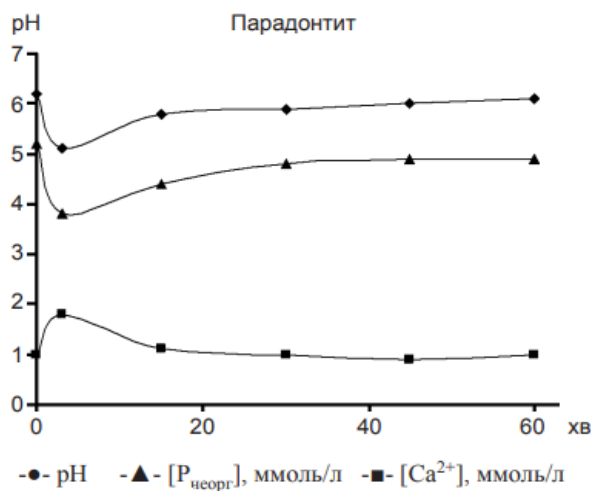
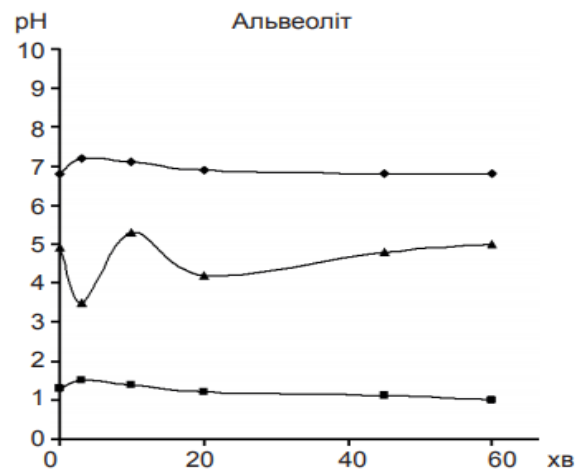
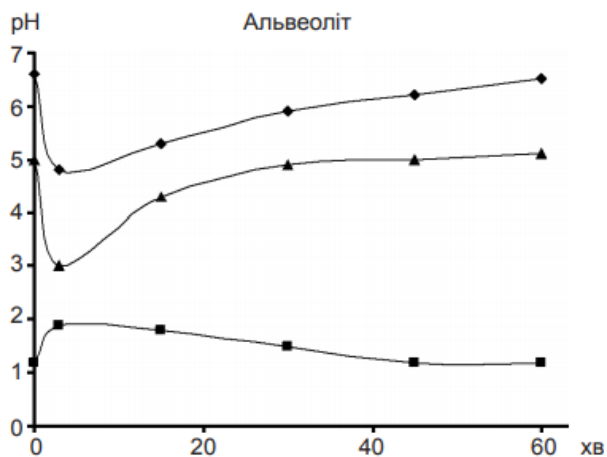
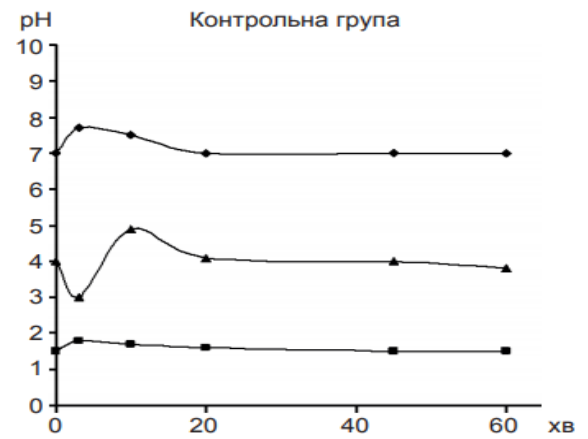
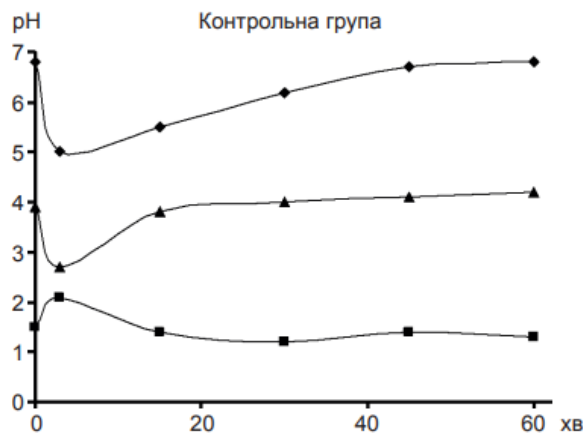


Рис. 5.1 Динаміка рН, концентрацій кальцію і неорганічного фосфору в ротовій рідині щурів при цукровому навантаженні

Рис. 5.2 Динаміка рН, концентрацій кальцію і неорганічного фосфору в ротовій рідині щурів при карбамідному навантаженні

Останнє відображається в зміні секреторної діяльності слинних залоз, що запускає каскад біохімічних порушень гомеостазу порожнини рота та призводить до порушення антагоністичних взаємовідношень між кислотопродукуючою та пародонтопатогенною мікрофлорою. Зміни балансу мікрофлори ротової порожнини відображається на динаміці рН, концентрації кальцію та неорганічного фосфату при тестових навантаженнях [18]. При цукровому навантаженні в результаті ферментації вуглеводів відбувається накопичення кислих еквівалентів – зниження рН ЗС. В групі щурів з гінгівітом та альвеолітом не виявлено вірогідних відмінностей показників рН, в той час як у щурів з пародонтитом рН вірогідно нижче ($p < 0,05$). На фоні зниження рН при цукровому навантаженні в результаті активації слинних залоз спостерігали підвищення концентрації кальцію з наступним поступовим поверненням до фонових значень. При цьому час повернення в групі щурів з гінгівітом та пародонтитом вірогідно більший даного показника у щурів з альвеолітом ($p < 0,05$). У відповідь на активацію слинних залоз на відміну від кальцію секреція неорганічного фосфату не змінювалась при збільшенні об'єму слини, яка секретується, що призводило до зниження його концентрації (табл. 5.2). В подальшому, для компенсації зсуву КОС порожнини рота в бік ацидозу рівень секреції фосфату підвищувався, при цьому переважно секретувався гідрофосфат-аніон. При співвідношенні показників рН та концентрації неорганічного фосфату (табл. 5.2) виявилось, що стабілізація концентрації неорганічного фосфату в контрольній групі відбувалась раніше, ніж стабілізація рН. В групі щурів з гінгівітом та альвеолітом стабілізація концентрації неорганічного фосфату також випереджала стабілізацію рН, а у групі щурів з пародонтитом стабілізація обох параметрів відбувалась одночасно. Вищезазначене відображається в підвищенні ступеня кореляції динаміки рН та концентрації неорганічного фосфату при цукровому навантаженні: $r^2=0,86$ – контрольна група, $r^2=0,93$ – група щурів з гінгівітом, $r^2=0,99$ – група з пародонтитом.

Таблиця 5.2

Біохімічні показники змішаної слини у щурів з захворюваннями тканин пародонта ($X \pm S_x$), n=20

Групи / Показник	Інтактний контроль	Щури з гінгівітом	Щури з пародонтитом	Щури з альвеолітом
pH	6,9±0,16	6,6±0,21	6,3±0,15*	6,6±0,24
Ca ²⁺ , мМ	1,5±0,12	1,2±0,12	0,9±0,10*	1,2±0,10
P _{неор.} , мМ	3,9±0,17	4,9±0,28*	5,6±0,42*	4,9±0,26*
КФО	0,3±0,03	0,3±0,03	0,2±0,02*	0,2±0,02*

Примітка. * - $p < 0,05$ відносно показників контрольної групи.

При карбамідному навантаженні (рис. 5.2) за рахунок гідролізу сечовини під дією мікробної уреазі спостерігали зміну pH ЗС у лужний бік. Аналіз pH при карбамідному навантаженні показував, що у всіх досліджуваних групах тварин немає вірогідних відмінностей, а час повернення pH до початкового рівня в групах щурів з гінгівітом, альвеолітом та пародонтитом вірогідно вище ($p < 0,05$). Значних змін концентрації кальцію при карбамідному навантаженні ми не спостерігали, однак кореляція між його динамікою та pH, на відміну від цукрового навантаження ($r^2 = -0,73$ – контрольна група, $r^2 = -0,98$ – група щурів з пародонтитом, $r^2 = -0,90$ – група з гінгівітом) із негативного трансформується в позитивний ($r^2 = 0,92$, $r^2 = 0,89$, $r^2 = 0,86$ відповідно). Показники КОС при карбамідному навантаженні різко залежать від показника pH та концентрації кальцію, тому значної кореляції ми не спостерігали. Разом з тим, чітко відстежували фазність фосфатних показників при карбамідному навантаженні: збільшувалася швидкість секреції та об'єму слини у відповідь на стимуляцію, при цьому рівень першочергової секреції фосфату залишався на початковому рівні. Зменшення активності секреції фосфату слинними залозами обумовлене розвитком алкалозу в ротовій порожнині, при цьому переважно секретується дигідрофосфат. В контрольній групі секреція кислого фосфату поступово

знижувалась, при цьому концентрація неорганічного фосфату стабілізувалась на рівні фонових значень. В групах щурів з гінгівітом та альвеолітом характер часової залежності концентрації неорганічного фосфату практично не відрізнявся від контрольної групи, а у щурів з пародонтитом спостерігали зменшення часу, а потім стабілізацію концентрації на рівні фонових значень.

Виявлений нами попереджуючий характер стабілізації концентрації неорганічного фосфату в ЗС, в порівнянні з рН, дозволяє свідчити, що фосфатна буферна система слини підключається переважно для корекції КОС при значеннях рН нижче 6,0. В групі щурів з пародонтитом фонові значення рН ЗС знаходилися в межах 6,16 – 6,46, тому при цукровому навантаженні роль фосфатної буферної системи збільшується, що являється одним із механізмів підтримки більш високої концентрації неорганічного фосфату в ЗС (табл. 5.2) [1, 23].

Висновки до розділу 5:

1. Основним діагностичним показником порушення кислотно-основного стану крові та слини щурів при захворюваннях пародонта є рН та надлишок чи дефіцит основ (ВЕ). 2. При цукровому навантаженні відбувається накопичення кислих еквівалентів, зниження рН змішаної слини, концентрації неорганічного фосфату та підвищення концентрації кальцію. Найбільш виражені зміни у щурів з пародонтитом, найменші – у щурів з альвеолітом. 3. При карбамідному навантаженні фосфатна буферна система слини підключається, переважно, для корекції КОС при значеннях рН нижче 6,0. Зменшення активності секреції фосфату слинними залозами обумовлене розвитком алкалозу в ротовій порожнині щурів. 4. В групі тварин з гінгівітом та альвеолітом характер часової залежності концентрації неорганічного фосфату не відрізнявся від групи контрольних щурів, а у щурів з пародонтитом виявлений попереджувальний характер стабілізації концентрації неорганічного фосфату в порівнянні із стабілізацією рН.

5. Визначення рН ротової рідини, як показник своєчасної діагностики порушень тканинного метаболізму та контролю ефективності фармакотерапії запальних захворювань пародонта ми винесли в практичні рекомендації.

Список використаних джерел у Розділі 5:

1. Березнякова А. І., Черемісіна В. Ф. Кислотно-основний стан крові та змішаної слини у шурів з захворюваннями пародонту. *Фізіологічний журнал*. 2018. Т. 64, № 1. С. 66-72.
2. Боровский Е. В., Леонтьев В. К. Биология полости рта. Н. Новгород : НГМА, 2001. 304 с.
3. Денисов А. Б. Слюнные железы. Слюна. М. : Изд-во РАМН, 2000. 362 с.
4. Денисов А. Б. Слюнные железы. Слюна. Часть 1. М. : Изд-во РАМН, 2003. 136 с.
5. Денисов А. Б. Слюнные железы. Слюна. Часть 2. Методы моделирования физиологических и патологических процессов. М. : Изд-во РАМН, 2003. 60 с.
6. Долгих В. Т. Клиническая патофизиология для стоматолога. Н. Новгород : Изд-во НГМА, 2000. 195 с.
7. Ким Л. Б., Куликов В. Ю., Стухляев В. П. Кислотно-основное состояние крови при экспериментальном инфаркте миокарда на фоне дитизинового диабета. *Бюллетень РО РАМН*. 2003. № 1 (107). С. 68–72.
8. Колобкова Л. Н., Николаев И. В., Карлов В. А. Исследование вегетативного статуса при заболеваниях пародонта. / *Неврология длиною в жизнь*: сб.науч. тр. М. : Изд-во МГМСУ, 2006. С. 141–148.
9. Лабораторные показатели ротовой жидкости и зубного налета у детей с фенилкетонурией / Е. В. Лихорад и др. *Медицинские новости*. 2017. Т. 6. С. 46–67.
10. Левицкий А. П., Деньга О. М., Макаренко О. А. Биохимические маркеры воспаления ткани полости рта. Одесса, 2010. 16 с.
11. Лесовая И. Г., Ткач Т. Г., Гасанова Г. Б. Состояние вегетативной

нервной системы и секреторной активности слюнных желез у пациентов с хроническим сиалоаденитом : *Инновационные технологии в стоматологическую практику* : X Конгресс ассоциации стоматологов Украины (Полтава, 2008). Полтава. С. 303.

12. Микрофлора полости рта: норма и патология / Е. Г. Зеленова, М. И. Заславская и др. Н. Новгород : Изд-во НГМА, 2004. 158 с.

13. Петрищев Н. Н., Орехова Л. Ю. Клиническая патофизиология для стоматологов. Н. Новгород : Изд-во НГМА, 2002. 110 с.

14. Пешкова Л. В. Спонтанное поражение тканей пародонта у крыс в условиях вивария, как модель пародонтита. *Вісник стоматології*. 1997. № 2. С. 163–168.

15. Румянцев В. А. Кривые рН после стимуляции протеолитической микрофлоры полости рта мочевиной (карбамидом). *Новое в стоматологии*. 2018. № 2 (62). С. 29–34.

16. Румянцев В. А., Петрикас А. Г. Практическое использование в стоматологии стимулирования изменений рН. *Новое в стоматологии*. 1998. № 7. С. 36–46.

17. Румянцев В. А., Петрикас А. Ж. Кислотно-основное равновесие в полости рта. Тверь : ТМИК «ВВВ», 2017. 8 с.

18. Северин С. Е., Соловьева Г. А. Практикум по биохимии. М. : МГУ, 1989. 509 с.

19. Спосіб моделювання альвеоліту у лабораторних тварин (щурів) / В. Ф. Черемісіна, М. І. Гармаш, А. І. Березнякова // пат. 129440 Україна: МПК G09В 23/28. № 201805815; заявл. 24.05.2018; опубл. 25.10.2018, Бюл. № 20. 3 с.

20. Спосіб моделювання гінгівіту / А. П. Левицький, І. О. Селиванська, О. А. Макаренко, Л. М. Розсаханова, І. В. Ходаков // пат. 31011 Україна: МПК А61Р 31/00, А61К 35/56, А61С 7/00. № 200711608; заявл. 22.10.2007; опубл. 25.03.2008, Бюл. № 6. 3 с.

21. Цепов Л. М., Голева Н. А. Роль миклофлоры в возникновении

воспалительных заболеваний пародонта. *Пародонтология*. 2009. № 1. С. 7–11.

22. Цепов Л. М., Николаев А. И., Михеева Е. А. Диагностика, лечение и профилактика заболеваний пародонта. М. : МЕД-ПРЕСС, 2008. 272 с.

23. Черемісіна В. Ф. Порушення кислотно-лужного балансу при захворюваннях пародонту. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : міжнар. наук.-практ. конф.* (Харків, 30-31 берез. 2017). Харків. С. 354.

24. Abert O. A. Xerostomia. Causes and effect. *Prosthet. Dent.* 2006. Vol. 84, № 1. P. 77–81.

25. Astrup P. A simple electrometric technique for the Determination of Carbon Dioxide Tension. *Scand. J. Din. Lab. Invest.* 1956. Vol. 8. P. 33.

26. Azizov R. F., Agaeva N. A., Sulcimanova T. G. Bacteriological factor in the etiology of inflammatory paradontis. *Georgian Med. News.* 2009. Vol. 174. P. 13–18.

27. Umland F., Mackenstock K. *Z. Anal Chem.* 1960. P. 176–196.

РОЗДІЛ 6

ЗМІНИ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ТРОМБОЦИТАРНОЇ ЛАНКИ ГЕМОСТАЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МОДЕЛЮВАННІ ПОРУШЕНЬ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ПАРОДОНТА

6.1. Зміни функціональної активності тромбоцитів при експериментальному моделюванні пародонтиту, гінгівіту та альвеоліту

Надзвичайно важливо своєчасно діагностувати ступінь процесів фіброзування органів та тканин, оскільки це має загальномедичне значення. Особливу зацікавленість представляє використання з цією метою дослідження агрегації тромбоцитів [1, 2, 3, 24]. Однак, механізми взаємопов'язаного функціонування системи сполучної тканини та тромбоцитів при захворюваннях пародонту до теперішнього часу не вивчені.

Відомо, що в запально-репаративних реакціях приймають участь різні популяції клітин, і на різних етапах запалення регуляція розвитку подальших подій послідовно переходять від однієї до іншої популяції [12, 26]. Спочатку ініціюється посилення агрегації тромбоцитів, відбувається дегрануляція тромбоцитами речовин, серед яких є сполуки, що здійснюють прямий стимулюючий вплив на колагенсинтезуючі клітини, тромбоцитарний фактор росту, ендотеліальний фактор росту та ін. Внаслідок, при вираженому запальному процесі в сполучній тканині спостерігаються розлади функції тромбоцитів: порушується адгезія, агрегація пластинок і реакція вивільнення [3, 12]. В зв'язку з тим, що АДФ-індукована агрегація розглядається дослідниками як показник найбільш залежний від рівня мінеральної щільності кісткової тканини та рекомендується в цілому для оцінки стану судинно-тромбоцитарної ланки гемостазу, ми використовували різні концентрації індукторів агрегації (АДФ) для вивчення функціональної активності тромбоцитів при захворюваннях пародонта [8, 15, 23, 30].

Вивчення функціональної активності тромбоцитів та аналіз агрегатограм (рис. 6.1 і рис. 6.2) у щурів з експериментальним пародонтитом виявило ознаки початку змін функцій тромбоцитарної ланки гемостазу. При

концентрації індуктора агрегації 2,5 мкмоль/л ступінь агрегації тромбоцитів, час досягнення максимальної швидкості агрегації та швидкість агрегації у тварин практично не відрізнялась від параметрів контрольної групи тварин [17, 19] (табл. 6.1).

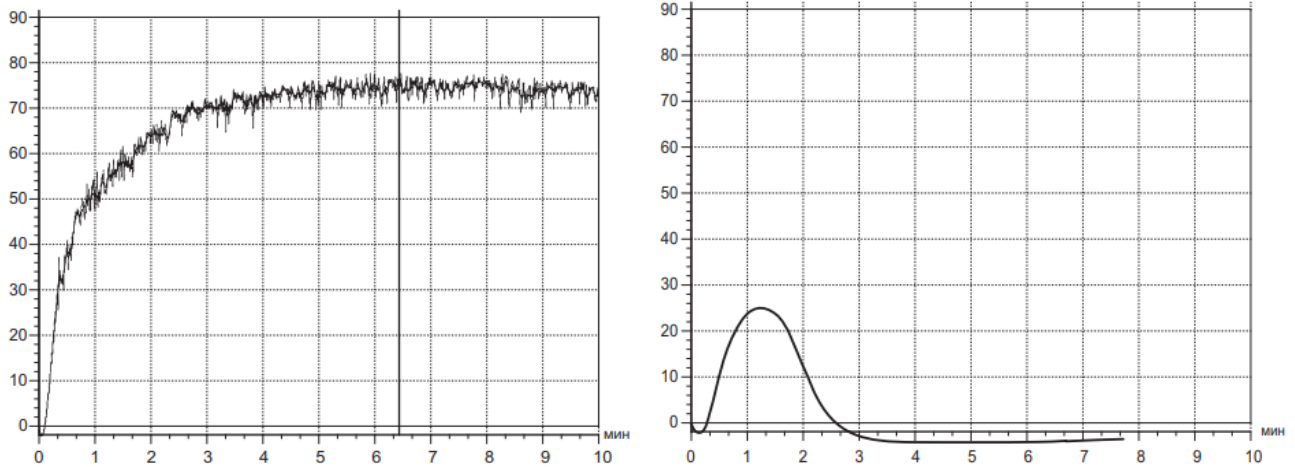


Рис. 6.1 Агрегатограма здорового щура та щура з пародонтитом при концентрації АДФ 2,5 мкмоль/л.

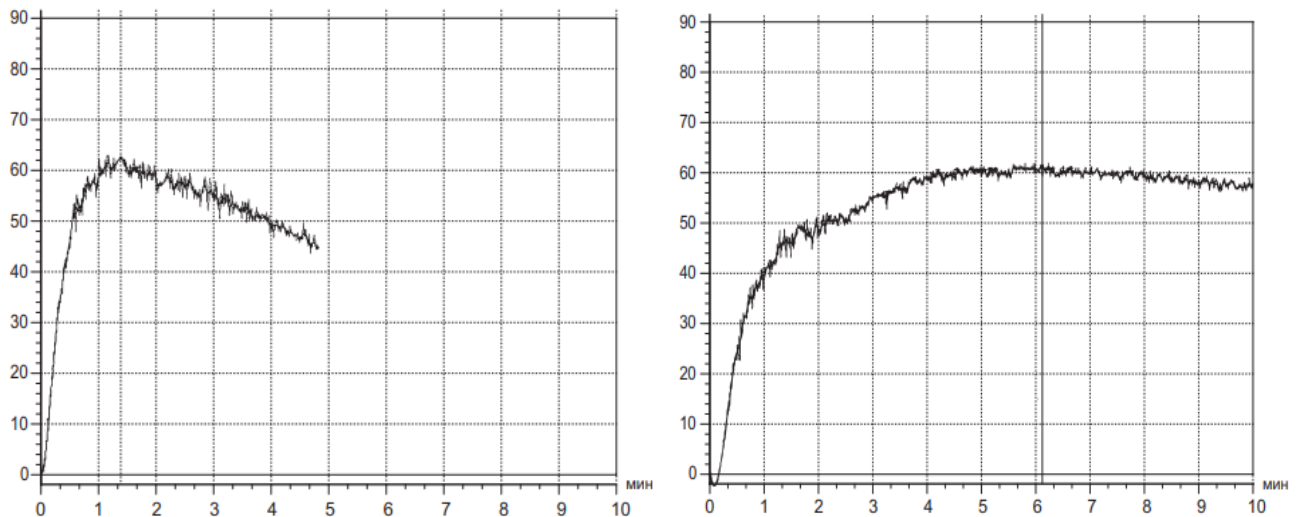


Рис. 6.2 Агрегатограма здорового щура та щура з пародонтитом при концентрації АДФ 10,0 мкмоль/л.

Таблиця 6.1

Показники агрегації тромбоцитів у щурів з експериментальним пародонтитом при концентрації АДФ 2,5 мкмоль/л ($X \pm S_x$, n=20)

Групи тварин	Показники агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимальної швидкості агрегації, с	Швидкість агрегації, %/хв
Контроль	45,1±10,55	85,2±7,78	59,2±21,51
Щури з пародонтитом	41,6±8,73	81,9±9,31	66,2±9,44

При концентрації індуктора агрегації 5 мкмоль/л у щурів з пародонтитом всі параметри агрегації мали тенденцію до зниження порівняно з такими у контрольних тварин [17, 19] (табл. 6.2).

Таблиця 6.2

Показники агрегації тромбоцитів у щурів з експериментальним пародонтитом при концентрації АДФ 5,0 мкмоль/л ($X \pm S_x$, n=20)

Групи тварин	Показники агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимальної швидкості агрегації, с	Швидкість агрегації, %/хв
Контроль	80,4±9,26	132,7±8,08	107,4±10,41
Щури з пародонтитом	61,6±7,65	105,6±10,61	87,1±7,54

Вивчення параметрів функціональної активності тромбоцитів при концентрації індуктора агрегації 10,0 мкмоль/л у тварин з пародонтитом показало, що всі параметри агрегації також знижувалися порівняно з показниками контрольної групи [17, 19] (табл. 6.3).

При мікроскопічному дослідженні констатували порушення гістоархітекtonіки сполучної тканини пародонту. В окремих мікропрепаратах сполучна тканина пародонту утворювала широкі фіброзні поля,

інфільтровані лімфоцитами та гістоцирними елементами. У прошарках сполучної тканини спостерігали розширення дрібних капілярів, а в деяких препаратах – переповнені кров'ю судини, що свідчило про порушення мікроциркуляції крові, зрив регуляторних механізмів репарації та вихід патологічного процесу на системний рівень. Не останню роль в цих процесах відігравала взаємодія клітин сполучної тканини з тромбоцитами [1, 2, 4, 12].

Таблиця 6.3

Показники агрегації тромбоцитів у щурів з експериментальним пародонтитом при концентрації АДФ 10,0 мкмоль/л ($X \pm S_x$, n=20)

Групи тварин	Показники агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимальної швидкості агрегації, с	Швидкість агрегації, %/хв
Контроль	90,5±6,22	202,5±4,64	108,5±11,24
Щури з пародонтитом	85,4±8,91	178,4±18,62	91,4±9,73

Виявлені порушення агрегаційної здатності тромбоцитів в кінці експерименту можна пояснити тим, що в сполучній тканині в процесі захворювання знижується кількість фібриногену, що синтезується, який приймає участь в процесах первинної, зворотної агрегації, зв'язуючись з рецепторами в мембрані тромбоцитів – глікопротеїдами та активованими тромбоцитами [3, 7, 12, 26]. При зниженні рівня фібриногену плазми та тромбоцитів послаблюється утворення мікроагрегатів, зворотних агрегатів і не зворотних. Крім цього, при фіброзуванні та склерозуванні сполучної тканини відбувається підвищення рівня циклічних нуклеотидів в тромбоцитах, що знижує їх агрегаційну активність [1, 4].

Наступним етапом вивчення агрегації тромбоцитів були щури з гінгівітом [16, 20, 22] (табл. 6.4). У тварин з гінгівітом при концентрації індуктора агрегації 2,5 мкмоль/л ступінь агрегації тромбоцитів, час досягнення максимальної швидкості агрегації та швидкість агрегації

практично не відрізнялись від показників контрольної групи тварин ($p=0,05$) [20, 22] (табл. 6.4).

Таблиця 6.4

Показники агрегації тромбоцитів у щурів з експериментальним гінгівітом при концентрації АДФ 2,5; 5,0 та 10,0 мкмоль/л ($X \pm S_x$, $n=10$)

Концентрація АДФ, мкмоль/л	Групи тварин	Показники агрегації		
		Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимальної швидкості агрегації, с	Швидкість агрегації, %/хв
2,5	контроль	45,0±10,6	85,1±7,8	59,1±21,5
2,5	гінгівіт	41,6±8,7	82,0±9,3	66,2±9,4
5,0	контроль	80,4±9,3	132,7±8,1	107,4±10,4
5,0	гінгівіт	61,6±7,7*	105,6±10,7*	87,1±7,6*
10,0	контроль	90,5±6,2	202,5±4,7	108,5±11,3
10,0	гінгівіт	85,4±9,0*	178,4±8,6*	91,4±9,8*

Примітка. * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою тварин.

При концентрації індуктора агрегації 5,0 мкмоль/л та 10,0 мкмоль/л у тварин цієї ж серії всі показники агрегації знижувалися порівняно з аналогічними у контрольних щурів (табл. 6.4). Одержані результати свідчать про порушення агрегаційної функції тромбоцитів при гінгівіті та призводять до порушень мікроциркуляції. При морфологічній верифікації виявлені явища тканинного набряку, розширення та повнокрів'я кровоносних судин, що свідчить про порушення регіонального кровообігу [20, 22]. Наступним етапом експериментів було вивчення показників агрегації у щурів з альвеолітом [13, 22] (табл. 6.5). Аналіз показників агрегації тромбоцитів у щурів з альвеолітом при концентрації індуктора АДФ 2,5 мкмоль/л виявив тенденцію до підвищення функціональної активності тромбоцитів, яка характеризує ступінь і швидкість агрегації (табл. 6.5).

Таблиця 6.5

Показники агрегації тромбоцитів у щурів з експериментальним альвеолітом при концентрації АДФ 2,5; 5,0 та 10,0 мкмоль/л ($X \pm S_x$, n=10)

Концентрація АДФ, мкмоль/л	Групи тварин	Показники агрегації		
		Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимальної швидкості агрегації, с	Швидкість агрегації, %/хв
2,5	контроль	45,0±10,6	85,1±7,8	59,1±21,5
2,5	альвеоліт	62,5±6,2*	82,2±6,7*	99,6±9,9*
5,0	контроль	80,4±9,3	132,7±8,1	107,4±10,4
5,0	альвеоліт	77,8±4,4	130,6±6,7	100,8±7,3
10,0	контроль	90,5±6,2	202,5±4,7	108,5±11,3
10,0	альвеоліт	88,4±6,1	200,0±10,0	104,8±10,2

Примітка. * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою тварин.

Показники агрегації у тварин з альвеолітом при концентрації АДФ 5,0 мкмоль/л та 10 мкмоль/л практично не відрізнялись від показників контрольної групи щурів [22] (табл. 6.5).

6.2. Стан агрегації тромбоцитів і дія інтерлейкінів 4 та 6 при захворюваннях пародонта

Одне із найважливіших місць у патогенетичних механізмах розвитку запальних захворювань пародонта відіграють порушення в системах регуляції гомеостазу, змін кісткової тканини та визначають розвиток напрямів цих процесів [23]. Провідну роль при цьому відводиться міжклітинним медіаторам – цитокінам, які мають тісні взаємозв'язки із тромбоцитарною ланкою гемостазу [2]. Тригером запуску змін метаболізму, фіналом яких стає переваження резорбції кісткової тканини над процесами її синтезу є запалення [9, 12]. Тісний зв'язок запалення як прояву активності імунної системи з механізмами системи гемостазу дозволяє розглядати

тромбоцити як учасників цих явищ [3, 4, 24, 27]. Якщо проблема взаємозв'язку процесів синтезу цитокінів з агрегацією кров'яних клітин досліджується вже досить широко [3, 5], то вивчення впливу цих процесів на зміни стану сполучної (кісткової) тканини ще знаходиться на початковому етапі. У організмі, при різних ситуаціях, каскад підвищення рівнів цитокінів починається з прозапальних цитокінів – ІЛ1, фактору некрозу пухлини, потім ІЛ-6. Після цього настає підвищення рівня протизапальних цитокінів, одним з яких раніше вважали ІЛ-4 [28, 32]. Але останні дослідження дозволяють припустити, що ІЛ-4 є регуляторним цитокіном із плейотропними ефектами, який до того ж сам може активувати ІЛ-6 [14, 29]. Рівень протизапального цитокіну ІЛ-4 у щурів з експериментальним пародонтитом підвищився в 1,5 рази, а у тварин з гінгівітом майже в 2 рази ($p < 0,05$) (табл. 6.6). У щурів з альвеолітом рівень ІЛ-4 не відрізнявся від контролю. Відповідно, у тварин з гінгівітом ІЛ-4 був, більш ніж в 2 рази вище, ніж у групі з альвеолітом; на 30% більше, ніж у групі з гінгівітом [18, 21, 25] ($p < 0,05$). З усіх груп з моделями захворювань тканин пародонту рівень прозапального ІЛ-6 відрізнявся від контролю тільки у щурів з гінгівітом ($p < 0,05$) (табл. 6.6), де зменшився на 74 % і зменшився приблизно на стільки ж у порівнянні з іншими моделями, оскільки при альвеоліті і пародонтиті рівень ІЛ-6 практично не відрізнявся від контролю ($p < 0,05$).

Таблиця 6.6

Рівень цитокінів у крові щурів при експериментальному пародонтиті, гінгівіті та альвеоліті ($X \pm S_x$)

Групи тварин	ІЛ-4, пг/мл	ІЛ-6, пг/мл
Інтактний контроль	3,83±0,40	2,18±0,20
Щури з пародонтитом	5,79±0,54 ^{*/**}	2,50±0,17 ^{**}
Щури з альвеолітом	3,63±0,82 ^{**}	2,33±0,67 ^{**}
Щури з гінгівітом	7,60±1,61 [*]	0,58±0,19 [*]

Примітки: * - у порівнянні з контролем; ** - у порівнянні з альвеолітом.

n=20 тварин у кожній серії експериментів.

Таким чином, в експериментальній моделі щурів з гінгівітом ми відзначили зниження рівня прозапального цитокіну ІЛ-6. У цій же моделі виявили найвище значення рівня протизапального цитокіна ІЛ-4 [18, 21, 25]. Цілком імовірним було припустити, що в даній моделі надмірне зниження рівня ІЛ-6 пов'язано з посиленням локального запального процесу. Причому на цьому етапі розвитку запального процесу рівень протизапальних цитокінів продовжував наростати, і, можливо, що високий рівень ІЛ-4 не коригувався зниженням рівня ІЛ-6. При цьому важливо враховувати, що ІЛ-6 – профіброгенний цитокін. Він підвищує синтез фібробластами колагену в сполучній тканині, глікозаміногліканів та тканинного інгібітора металопротеїнази-1 [10, 29, 31]. При низькому рівні ІЛ-6 в кістковій тканині пародонта не відбувається достатньої стимуляції синтезу колагену, яка повинна бути при нормальному, для даних умов, рівні ІЛ-6. Відповідно, кісткова тканина втрачає колагеновий матрикс і не заповнює його шляхом активації синтетичних процесів. Це тягне за собою порушення відновних процесів. Зазвичай рівень прозапальних цитокінів відображає ступінь активності запалення і тяжкості патологічного процесу. Тут варто зазначити, що низький рівень ІЛ-6, можливо, свідчить про початок порушень механізмів підтримання гомеостазу і виході адаптаційних механізмів за межі їх можливостей. Підвищений рівень ІЛ-4 у групи тварин з гінгівітом, навпаки, свідчить про реалізації організмом патологічної реакції.

І, цілком ймовірно, на даному етапі виявилось зафіксованим той стан, коли відбулося перенапруження фізіологічних механізмів адаптації, і пул прозапального цитокіну вже виснажився. У цитокиновій системі виник дисбаланс: рівень протизапального цитокіну ще високий, але знаходиться вже на стадії, що передує момент виснаження. Можливо, при моделюванні пародонтиту рівень ІЛ-4 підвищується в зв'язку з остеопороз-асоційованим запаленням. При гінгівіті рівень ІЛ-4 зростає ще більше, незважаючи на те, що при альвеоліте він не підвищується порівняно з даними контрольної групи щурів. Такий стан може відображати вихід адаптаційних механізмів

організму з режиму нормального функціонування, залучення додаткових резервів адаптації та наближення його до рівня їх виснаження. Нормальне протікання процесів відновлення гомеостазу в пародонті порушено, і організму доводиться працювати на межі адаптаційних можливостей.

Висновки до розділу 6:

1. У щурів з експериментальним пародонтитом відбувається зниження агрегаційної активності тромбоцитів. 2. Порушення стану сполучної тканини пародонта проявляються перебудовою судинного басейну, порушенням мікроциркуляції крові, зривом регуляторних механізмів репарації, виходом патологічного процесу на системний рівень. 3. При експериментальному пародонтиті виявлені чіткі зміни функціональної активності тромбоцитів: при всіх концентраціях індуктора агрегації (АДФ в дозі 2,5 мкмоль/л, 5,0 та 10,0 мкмоль/л) знижується ступінь та швидкість агрегації, а також час досягнення максимальної швидкості агрегації. 4. При гінгівіті змінюються агрегаційні властивості тромбоцитів і, в поєднанні, з порушенням мікроциркуляції, починається процес ремоделювання тканин пародонту. 5. Низькі концентрації (2,5 мкмоль/л) аденозиндифосфата підвищують функціональну активність тромбоцитів, що характеризує ступінь та швидкість агрегації у щурів з альвеолітом і не змінюють ці показники у тварин з гінгівітом. 6. Високі концентрації (5,0 та 10,0 мкмоль/л) аденозиндифосфата не впливають на функціональну активність тромбоцитів у тварин з альвеолітом; у щурів з гінгівітом призводять до зниження швидкості агрегації та часу максимальної швидкості та ступені агрегації. 7. У щурів з гінгівітом рівень прозапального ІЛ-6 зменшується та підвищується рівень протизапального цитокіна ІЛ-4.

Список використаних джерел у Розділі 6:

1. Алексеенко Е. Ю., Говорин А. В., Цвингер С. М. Нарушение тромбоцитарного звена гемостаза и цитокинового баланса у больных остеоартрозом в сочетании с артериальной гипертензией. *Казанский медицинский журнал*. 2011. Т. 92, № 3. С. 305–308.

2. Аранович А. М., Трофимова Е. В., Сашенков С. Л. Тромбоцитарный гемостаз при дистракционном остеосинтезе. *Известия Челябинского научного центра*. 2015. № 4 (30). С. 208–211.
3. Выготская Я. И., Король Ю. С., Бужерак Н. Ф. Приобретенные тромбоцитопатии. *Мистецтво лікування*. 2006. № 1. С. 23–25.
4. Доманова Е. Т., Зобнин В. В., Соловьев С. Н. Нарушения гемостаза при хронических заболеваниях пародонта. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2017. № 55 (1). С. 114–117.
5. Захарова Н. О., Яковлев О. Г., Брыляков С. Н. Агрегационная функция тромбоцитов у лиц старших возрастных групп с ишемической болезнью сердца на фоне старческого остеопороза. *Клиническая геронтология*. 2009. Т. 9, № 4. С. 23–25.
6. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико–биологических исследованиях с использованием Excel. К. : МОРИОН, 2000. 320 с.
7. Мазуров В. И. Биохимия коллагеновых белков. М., 1994. 225 с.
8. Майчук Е. Ю., Юренева С. В., Митрохина Т. В. Развитие атеросклероза и остеопороза у женщин. *Проблемы женского здоровья*. 2010. Т. 5, № 3. С. 51–55.
9. Определение свободного и связанного оксипролина в моче / П. Н. Шараев и др. *Лабораторное дело*. 1990. № 12. С. 23–25.
10. Поворознюк В. В. Остеопороз та біохімічні маркери метаболізму кісткової тканини. *Лабораторна діагностика*. 2002. № 1. С. 53–59.
11. Резніков О. Г., Соловійов А. І., Стефанов О. В. Біотична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах: метод. рекомендації. *Вісник фармакології і фармації*. 2006. № 7. С. 47–61.
12. Серов В. В., Пауков В. С. Воспаление: рук. для врачей. М. : Медицина, 1995. 640 с.
13. Спосіб моделювання альвеоліту у лабораторних тварин (щурів) / В. Ф. Черемісіна, М. І. Гармаш, А. І. Березнякова // пат. 129440 Україна:

МПК G09B 23/28. № 201805815; заявл. 24.05.2018; опубл. 25.10.2018, Бюл. № 20. 3 с.

14. Спосіб моделювання гінгівіту / А. П. Левицький, І. О. Селиванська, О. А. Макаренко, Л. М. Розсаханова, І. В. Ходаков // пат. 31011 Україна: МПК А61Р 31/00, А61К 35/56, А61С 7/00. № 200711608; заявл. 22.10.2007; опубл. 25.03.2008, Бюл. № 6. 3 с.

15. Спосіб оцінки агрегаційної активності тромбоцитів / С. Б. Павлов, Н. М. Бабенко, М. В. Кумечко, Л. В. Черних // пат. 77372 Україна: МПК G01N 33/86. № 201209532; заявл. 06.08.2012; опубл. 11.02.2013, Бюл. 3. 4 с.

16. Сукманский О. И., Макаренко О. А. Экспериментальная модель генерализованного пародонтита. *Вісник стоматології*. 2006. № 2. С. 2–3.

17. Черемісіна В. Ф., Березнякова А. І. Особливості функціонування тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному моделюванні пародонтиту. *Буковинський медичний вісник*. 2017. Том 21, № 4 (84). С. 160–164.

18. Черемісіна В. Ф. Взаємозв'язки між рівнем інтерлейкінів та функціональною активністю тромбоцитів при захворюваннях м'яких тканин пародонта. Здобутки клінічної та експериментальної медицини : LX наук.-практ. конф., присвячена 60-річчю ТДМУ. (Тернопіль, 14 червня 2017). Тернопіль. С. 374–375.

19. Черемісіна В. Ф. Зміни функціональної активності тромбоцитів у щурів при експериментальному порушенні стану сполучної тканини пародонта. *Запорожский медицинский журнал*. 2018. Т. 20, № 4 (109). С.553–557.

20. Черемісіна В. Ф. Функціональна активність тромбоцитів у щурів при експериментальному моделюванні гінгівіту. *Вісник морської медицини*. 2018. № 1 (78). С. 70–74.

21. Черемісіна В. Ф., Березнякова А. І. Стан агрегації тромбоцитів і дія інтерлейкінів 4 та 6 при експериментальному альвеоліті. *Світ медицини та біології*. 2017. № 4 (62). С. 165–168.

22. Черемісіна В. Ф., Березнякова А. І. Функціональна активність тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному моделюванні гінгівіту та альвеоліту. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2017. Т. XVI, № 4 (62). С. 97–102.

23. Шехтман А. Г., Брылякова С. Н. Изменения некоторых показателей системы гемостаза в зависимости от выраженности потери костной массы у пожилых пациентов. *Геронтология и гериатрия*. 2014. № 3. С. 167–169.

24. Aggregation properties in acute pancreatitis patients / B. B. Bromberg et al. *Saratov medical-scientific J.* 2009. Vol. 5, № 3. P. 438–440.

25. Berezniakova A. I., Cheremisina V. F. 4 and 6 interleukin's action in the pathogenesis of periodontitis, gingivitis and dental alveolitis. *Wiadomosci Lekarskie*. 2017. T. LXX, № 5. P.910–913.

26. Ceciliani F., Giordano A., Spagnolo V. The systematic reaction during inflammation: the acute phase proteins. *Protein Pept. Lett.* 2016. Vol. 9, №. 3. P. 211–223.

27. Chamorro A. Role of inflammation in stroke and atherosclerosis. *Cerebrovasc. Dis.* 2004. Vol. 17, №. 3. P. 15.

28. Gene expression profile in interleukin4-stimulated human vascular endothelial cells / Y. W. Lee et al. *Molecular Medicine*. 2014. Vol. 10, №. 1–6. P. 19–27.

29. Interleukin-6 and interleukin-11 support human osteoclast formation by a RANKL-independent mechanism / O. Kudo et al. *Bone*. 2003. Vol. 32, № 1. P. 1–7.

30. Marini F., Brandi M. L. Genetic determinants of osteoporosis: common bases to cardiovascular diseases. *Int. J. Hypertens.* 2010. Vol. 25. P. 210–215.

31. Ramani K., Pawaria S., Maers K. An essential role of interleukin-17 receptor signaling in the development of autoimmune glomerulonephritis. *J. Leukoc. Biol.* 2014. Vol. 96 (3). P. 463–472.

32. Tedgui A., Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and pathway. *Physiol. Rev.* 2006. Vol. 86. P. 515–561.

РОЗДІЛ 7

ОБМІННІ ПРОЦЕСИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ОРГАНІЗМА ТА ЇХ РОЛЬ В РЕЗОРБЦІІ ТА РЕМОДЕЛЮВАННІ В ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА

Сполучна тканина (СТ) займає в організмі особливе місце [3]. Компоненти СТ відіграють важливу роль в функціонуванні паренхіматозних органів, судин, серця, шлунка, кишечника не тільки в якості структурного компоненту, але і як носій одного із цих механізмів [14]. Через загальні молекулярні медіатори регуляції клітин СТ та інших клітин органів, клітин імунної системи та ін. [32], реактивність СТ суттєвим чином відображається на розвитку запальних, деструктивних та захисних процесів при різних гострих та хронічних патологічних станах [6, 13, 31, 32]. Фібробласти як основні клітини СТ, продукують колаген та глікозаміноглікани. В осередку запалення відбуваються неперервні процеси біосинтезу та катаболізму колагену, що забезпечуються продукцією специфічних колагеназ фібробластами, макрофагами, нейтрофілами, епітеліальними та іншими клітинами. Порушення функцій фібробластів лежать в основі хронічних ерозивно-виразкових процесів. В доступній нам літературі ми не зустрічали праць по вивченню порушень метаболізму сполучної тканини при захворюваннях тканин пародонта.

7.1. Рівень оксипроліну в крові тварин з пародонтитом, гінгівітом та альвеолітом

Тому наступним етапом нашої роботи було вивчення обмінних процесів сполучної тканини пародонта при пародонтиті, гінгівіті та альвеоліті. Одним із показників, який використовується для вивчення процесів обміну СТ, є рівень оксипроліну в сироватці крові, який відображає інтенсивність процесу колагенутворення. Оксипролін – одна із амінокислот колагену. В крові оксипролін може знаходитися у вільному, пептидно- і білокзв'язаному вигляді. Рівень вільного оксипроліну (ВОП) в сироватці крові відображає процеси деградації колагену, рівень білокзв'язуючого

оксипроліну (БЗОП) – процеси біосинтезу білка. Літературні дані про вміст пептиднозв’язаного оксипроліну (ПЗОП) не мають однозначної інтерпретації. Вважається, що вміст ПЗОП відображає одночасно ступінь розпаду та синтезу колагену [12, 28]. Нами встановлено, що концентрація різних фракцій ОП в сироватці крові мала наступні тенденції: рівень ВОП підвищувався у всіх досліджуваних групах при збільшенні тяжкості патологічного процесу в тканинах пародонту. Достовірні вірогідності порівняно з контролем спостерігались в групах щурів з гінгівітом та пародонтитом. Концентрація ВОП в цих групах була вище на 37 % та 85 % відносно контролю відповідно ($p < 0,05$ в обох випадках).

Таблиця 7.1

Вміст метаболітів сполучної тканини в сироватці крові при захворюваннях пародонту ($X \pm S_x$, $n=10$)

Група	ВОП, мкмоль/л	ПЗОП, мкмоль/л	БЗОП, мкмоль/л
Контроль	12,02±0,36	8,71±0,16	97,2±3,08
Альвеоліт	13,99±0,43	23,7±0,56*	110±2,72*
Гінгівіт	16,4±0,53*	28,6±1,33*	101±2,67
Пародонтит	22,2±1,09*	42,5±1,4*	94,5±3,81

Примітка. * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою тварин.

При вивченні концентрації ПЗОП в сироватці крові були виявлені схожі закономірності. В групах з альвеолітом, гінгівітом та пародонтитом рівень ПЗОП підвищувався порівняно з показниками контрольної групи – в 2,7; 3,3 та 4,9 рази відповідно. Значимість відмінностей в цих групах була високою: $p < 0,05$. Рівень БЗОП достовірно підвищувався в групі щурів з альвеолітом порівняно з контролем – на 14 % відповідно ($p < 0,05$). При цьому спостерігали наступну тенденцію: з підвищенням тяжкості патологічного процесу в пародонті вміст БЗОП зменшується від підвищених значень у щурів з пародонтитом до практично нормальних цифр. Прийнято вважати, що концентрація ВОП в сироватці крові відображає інтенсивність розпаду

колагену, вміст ПЗОП – одночасно ступінь розпаду і біосинтезу. Процес синтезу колагену зазвичай супроводжується підвищенням рівня БЗОП. Проведені нами дослідження підтверджують відомі літературні дані про те, що запалення супроводжується активізацією як процесів синтезу, так і розпаду колагену. Вміст сумарного оксипроліну в сечі через добу після початку експерименту склало при гінгівіті $0,28 \pm 0,08$ мг/добу і практично не відрізнялося від рівня контролю ($0,20 \pm 0,04$ мг/добу) (рис. 7.1).

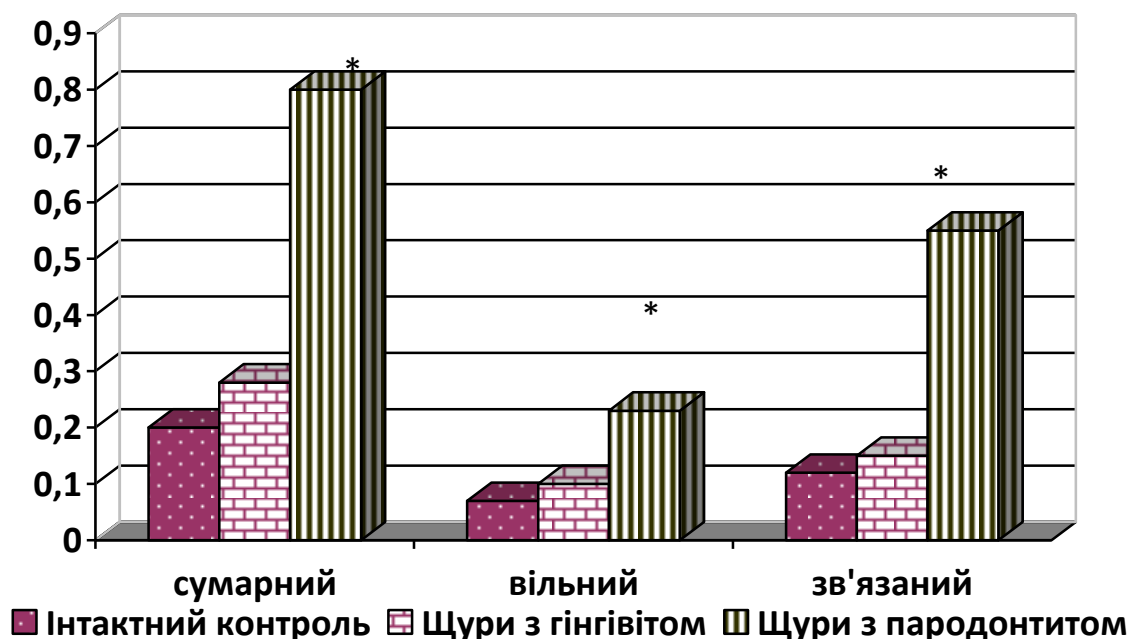


Рис. 7.1. Рівень оксипроліну в сечі щурів сполучної тканини пародонта при гінгівіті і пародонтиті

Примітка: * - $p < 0,05$ порівняно з контролем

Цей же показник при пародонтиті виріс до $0,81 \pm 0,16$ мг/добу ($p < 0,05$). При гінгівіті відзначена тенденція до збільшення фракції вільного оксипроліну – $0,10 \pm 0,03$ мг/добу (при рівні контролю $0,06 \pm 0,01$ мг/добу), а при пародонтиті його вміст підвищувався більш значно – $0,24 \pm 0,05$ мг/добу ($p < 0,05$) при порівнянні з контрольною групою тварин. Крім цього, ми спостерігали тенденцію до збільшення фракції зв'язаного оксипроліну – $0,17 \pm 0,05$ мг/добу – у групі з гінгівітом (при рівні контролю – $0,14 \pm 0,03$ мг/добу) та значне підвищення при пародонтиті ($0,57 \pm 0,12$ мг/добу) ($p < 0,05$) [21, 22]. При дослідженні в сечі рівня загального білка та альбуміну,

креатиніну і сечовини, виявилось, що рівень загального білка у щурів з гінгівітом різко зріс в порівнянні з контролем в 3,2 рази ($p < 0,05$) (рис. 7.2). Рівень альбуміну у цих щурів мав тенденцію до підвищення. Вміст креатиніну в сечі практично залишалася на тому ж рівні $3,68 \pm 0,62$ мг/добу – у контролі і $2,79 \pm 0,66$ мг/добу відповідно. Відомо, що ці показники сечі по мірі природного видужування в умовах віварію (10 – 15 день експерименту) повинні знижуватися. Однак, рівні показників креатиніну у деяких дослідників навіть підвищувалися[8]. В нашому експерименті у щурів з гінгівітом, через 5 днів експерименту, рівень загального білка знизився в порівнянні з рівнем контрольної групи тварин ($20,92 \pm 2,93$ мг/добу), і має відмінності порівняно з результатами, отриманими у щурів з пародонтитом ($26,72 \pm 4,7$ мг/добу) (рис. 7.2).

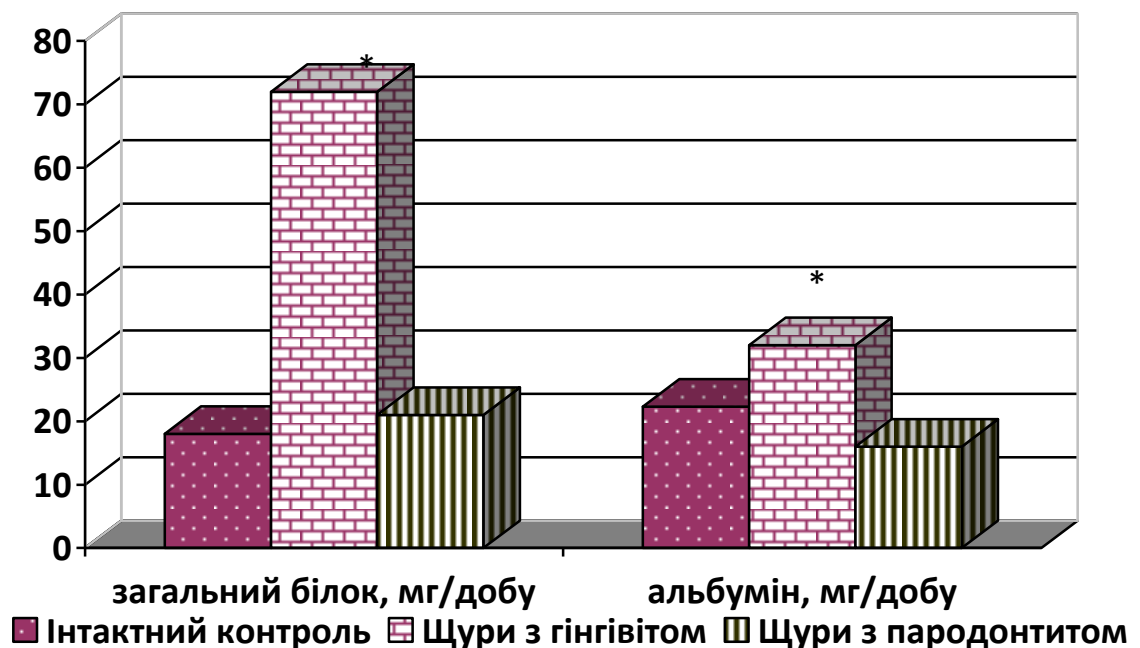


Рис. 7.2. Зміни рівня загального білка та альбуміну в сечі щурів при гінгівіті і пародонтиті

Примітка: * - $p < 0,05$ у порівнянні з контролем

Рівень сечовини в сечі через добу після моделювання пародонтиту мав тенденцію до підвищення у порівнянні з контролем ($93,96 \pm 15,96$ мг/доб у контролі та $108,4 \pm 67,15$ мг/добу у щурів з гінгівітом) (рис. 7.3).

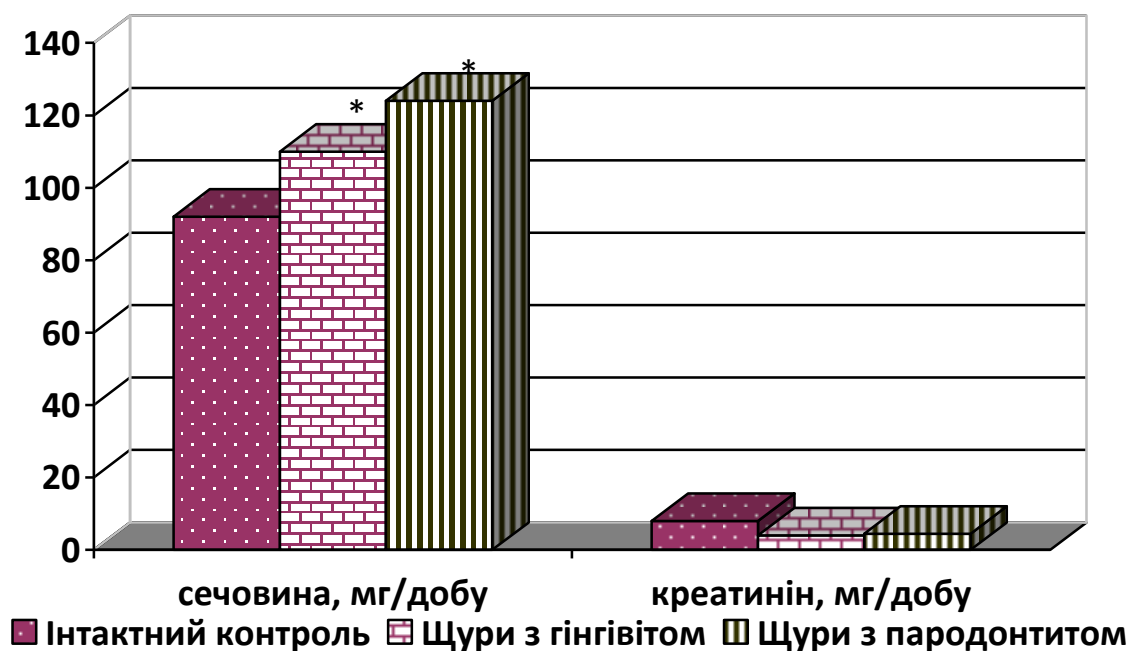


Рис. 7.3. Зміни рівня сечовини і креатиніну в сечі щурів при гінгівіті і пародонтиті

Примітка: * - $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

Рівень альбуміну мав тенденцію до зниження в порівнянні з інтактними тваринами ($28,19 \pm 5,86$ мг/добу і $16,00 \pm 4,61$ мг/добу відповідно). Вміст сечовини в сечі через 10 днів, після початку експерименту, у щурів з гінгівітом значно підвищувався – $301,46 \pm 49,74$ мг/добу на відміну від рівня інтактних щурів $93,96 \pm 15,96$ мг/добу. Вміст креатиніну в ці терміни в сечі також підвищувався в 2 рази – $3,68 \pm 0,62$ мг/добу в контрольній (інтактній) групі і $7,82 \pm 0,93$ мг/добу у щурів з пародонтитом.

Розвиток захворювань – гінгівіту і пародонтиту, про що свідчать результати експериментів, запустило процеси резорбції сполучної тканини пародонту і динаміка цих патологічних процесів свідчить про те, що, поряд з ушкодженням м'яких тканин пародонту, йде процес їх поступового відновлення, тобто ремоделювання. Проте, подальший розвиток патологічних процесів, ймовірно, залежить від ступеня первинних порушень сполучної тканини. Якщо сила впливу виходить за межі її адаптації, то можливий зрив, в результаті якого замикається петля позитивного

зворотного зв'язку патологічного процесу. В результаті розвиток патологічного процесу може продовжитися навіть після клінічного одужання і відновлення гомеостазу. Це припущення засноване на тому, що рівень оксипроліну, який є маркером резорбтивних процесів, повністю не нормалізується. Цей факт узгоджується з існуючими на даний момент поглядами. Разом з тим, через 10 днів експерименту, ще не можна говорити про зрив адаптаційних механізмів організму в цілому, оскільки поряд зі зростанням рівня вільного оксипроліну, що свідчить про початок резорбції кісткової тканини, спостерігається підвищення вмісту і зв'язаного оксипроліну, який є індикатором синтетичних процесів фізіологічної системи сполучної тканини. Ці процеси закономірно відображаються у підвищенні рівнів ВОП, ПЗОП та БЗОП в сироватці крові в групі щурів з альвеолітом. Причому в цій групі не спостерігаються значні зміни співвідношення ЗОП та ПЗОП, що може свідчити про збереження балансу синтезу та розпаду колагену в системі СТ в цілому. Зміни в осередку запалення носять компенсаторний характер і не виходять за межі фізіологічних можливостей системи. В групах щурів з гінгівітом та пародонтитом при підвищенні концентрації ЗОП та ПЗОП, вміст БЗОП залишається в межах нормальних значень. Різноманітність змін показників, що відображають синтез та розпад колагену, може свідчити про те, що в системі СТ проходять активні обмінні процеси.

Таким чином, можна припустити, що перенос запалення на СТ виникає тільки при значних об'ємах пошкодження і значній тривалості процесу. І може бути одним із факторів хронізації патологічного процесу і ризику рецидиву. Однак питання ступеню залучення системи СТ в патологічний процес та механізмах такого процесу недостатньо зрозумілі. Перенос запалення на СТ може бути як одним із патологічних факторів, що діють за принципом позитивного зворотного зв'язку так і лише наслідком процесів в осередку запалення. Цей факт може відображати як відновні процеси в сполучній тканині пародонту, так і посилення синтезу колагену. Вірогідність

цього процесу може зростати внаслідок синергізму запального процесу в тканинах пародонта на тлі напруження механізмів адаптації в фізіологічній системі сполучної тканини.

7.2. Стан тканин пародонта, пов'язаних з порушеннями кисневого режиму

На експериментальній моделі гідрокортизонового пародонтиту у кролів ми вивчали стан ПОЛ та АОС в сироватці крові та тканинах пародонта. Це було пов'язано з тим, що нас цікавив стан тканин пародонта та його зв'язок з порушенням кисневого режиму при стресі, який розвивається у тварин при роботі з ними [5, 11, 14, 30]. Тим більше вже доведено, що зміни показників системи ПОЛ слугують маркерами виразності запального процесу та ефективності лікування.

При дослідженні стану ПОЛ та АОС у сироватці крові спостерігали активацію ПОЛ і зниження антиоксидантного захисту. Про це свідчить збільшення церулоплазміну в 1,9 рази та ТБК-реактивів в 1,6 рази порівняно з інтактним контролем та зниження активності каталази в 1,5 рази. Відмічали також зниження показника АПІ в 3,4 рази, що також підтверджувало наявність пошкоджень при пародонтиті у кролів [25, 26] (табл. 7.2). Підвищення концентрації в сироватці крові при пародонтиті церулоплазміну свідчить, по-перше, про перерозподіл його в кровоносному руслі та є компенсаторною реакцією, направленою на підтримку рівня АОС організму, а, по-друге, підтверджує наявність запальних явищ в групі кролів контрольної патології [7]. В наступному етапі експерименту ми досліджували стан ПОЛ в гомогенаті тканини нижньої щелепи пародонту та отримали однонаправлені результати: виснаження АОС, про що свідчило зниження активності каталази, це дуже важливо, оскільки каталаза – фермент класу оксидоредуктаз, що розкладає перекис водню, який утворюється в процесі біологічного окиснення на воду та молекулярний кисень, а також окиснює при наявності перекису водню низькомолекулярні спирти та нітроти, і приймає, таким чином, участь в процесі клітинного дихання [4, 25, 26, 29].

Таблиця 7.2

Показники ПОЛ та АОС в сироватці крові за умов пародонтита у кролів ($X \pm S_x$, n=6)

Групи	Показники			
	Церулоплазмін, мг%	Каталаза, мккат/г	Вміст ТБК-реактантів, мкмоль/г	АПІ, ум.од.
Інтактні кролі	27,5±0,9	0,55±0,06	1,30±0,08	0,42±0,07
Кролі з пародонтитом	52,6±0,9*	0,36±0,08*	2,1±0,07*	0,17±0,03*

Примітка. * - $p < 0,05$ порівняно з інтактною групою тварин.

Зниження концентрації каталази на фоні підвищення вмісту ТБК-реактантів та значного зниження АПІ (в 6,5 разів) свідчить про те, що в патогенезі стресу у кролів та розвитку патології в пародонті велике значення відіграють кисневозалежні механізми [1, 5, 25, 26].

Таблиця 7.3

Показники ПОЛ та АОС у гомогенаті тканини нижньої щелепи за умов пародонтита у кролів ($X \pm S_x$, n=6)

Групи	Показники		
	Каталаза, мккат/г	Вміст ТБК-реактантів, мкмоль/г	АПІ, ум.од.
Інтактні кролі	1,72±0,09	0,64±0,09	2,69
Кролі з пародонтитом	0,98±0,01*	2,40±0,02*	0,41*

Примітка. * - $p < 0,05$ порівняно з інтактною групою тварин.

Результати визначення показників ПОЛ в гомогенаті тканини нижньої щелепи представлені в табл. 7.3.

7.3. Роль еритроцитів та циркулюючих імунних комплексів в патогенезі запальних захворювань пародонта

Оскільки еритроцитам та ЦК приділяється особливе значення в системах антипероксидазного та антирадикального захисту організму, наступним етапом експериментів було вивчення ролі еритроцитів та ЦК в патогенезі пародонтита, гінгівіта та альвеоліта [10, 19, 20]. Першим етапом

експерименту було визначення ЦК та їх молекулярного складу у інтактних тварин та у щурів з пародонтитом [18] та гінгівітом [17] (табл. 7.4). Вони характеризувалися, передусім, підвищенням концентрації ЦК, переважно за рахунок найбільш патогенних середньомолекулярних (11 S – 19 S) і дрібномолекулярних (<11 S) фракцій. В більшій мірі збільшення рівня ЦК ми відзначали у групі щурів з пародонтитом (в 1,6 разів) та групі з гінгівітом (в 1,59 разів). Дійсно, абсолютний вміст середньомолекулярної фракції (11 S – 19 S) у групі щурів з гінгівітом і пародонтитом був підвищеним практично однаково (у щурів з гінгівітом в 2,02 рази; у групі тварин з пародонтитом – в 2,0 рази) ($p < 0,05$). Що стосується концентрації дрібномолекулярних імунних комплексів, то у щурів з пародонтитом вона була підвищена в 1,74 рази, а в групі тварин з гінгівітом – в 1,72 рази ($p < 0,05$). Важливо, що в той же час абсолютна концентрація великомолекулярних ІК (>19 S) у більшості тварин обох груп була на рівні інтактної контрольної групи або навіть трохи більше верхньої межі норми ($p < 0,05$). Разом з тим, відносна концентрація цієї фракції ІК зменшилась у групі щурів з пародонтитом в 1,28 рази; у групі щурів з гінгівітом – в 1,27 рази (тобто також практично однаково). Таким чином, відмічено підвищення ЦК у сироватці крові за рахунок значного збільшення концентрації середньо- і дрібномолекулярної фракції ІК, зниження концентрації ЦК до верхньої межі норми та нормалізація молекулярного складу ІК. Як видно з табл. 7.5, в групі щурів з пародонтитом концентрація ЦК значно знизилася по відношенню до вихідного рівня і досягала верхньої межі норми ($1,94 \pm 0,08$ г/л). Одночасно відзначено виражене зменшення як абсолютної, так і відносної концентрації середньо- і дрібномолекулярних фракцій ІК щодо верхньої межі норми. У групі тварин з гінгівітом спостерігали позитивну динаміку щодо концентрації ЦК та їх молекулярного складу, однак, менш виражену, ніж у групі тварин з пародонтитом. Отримані нами результати дозволяють сказати, що найбільш чутливі до дефіциту кисню тканини, менш за все пристосовані до

анаеробного засобу отримання енергії [6, 15].

Таблиця 7.4

Рівень ЦІК та їх молекулярний склад у крові щурів з пародонтитом і гінгівітом ($X \pm S_x$)

Показники		Інтактні щури (фізіологічний контроль)	Щури з експериментальним пародонтитом	Щури з експериментальним гінгівітом
ЦІК	г/л	1,88±0,02	3,01±0,12*	3,00±0,11*
(>19 S)	%	44,5±1,29	34,8±1,6*	35,1±1,4*
	г/л	0,84±0,04	1,06±0,06	1,05±0,05
(11S - 19S)	%	30,5±1,0	38,2±1,28*	38,0±1,21*
	г/л	0,57±0,04	1,16±0,05*	1,14±0,05*
(<11 S)	%	25,0±1,2	27,0±1,1	26,8±1,2
	г/л	0,48±0,02	0,82±0,05*	0,80±0,06

Примітки: * - $p < 0,05$; $n = 20$ тварин у кожній групі.

Кров, як рідка сполучна тканина організму, не тільки забезпечує взаємозв'язок всіх органів та систем, являючись індикатором стану організму, але і сама безпосередньо реагує на дефіцит кисню. Реакція еритроцитів при захворюваннях пародонта не вивчена. Тому, наступним етапом експериментів було дослідження участі еритроцитів в патогенезі захворювань пародонта. Вцілому, формені елементи крові: еритроцити, тромбоцити, гранулоцити, лімфоцити, плазматичні клітини і моноцити є цікавими об'єктами для вивчення при гіпоксії, тому що вони відрізняються один від одного не тільки за функціями, що виконують, але і за характером обмінних процесів, ступеню використання кисню, здатності до генерації АФК та стійкості до них. Еритроцити унікальні тим, що вони постійно контактують з киснем, транспортуючи його до всіх тканин, але не використовують кисень для себе. Еритроцити, володіючи виключно анаеробним метаболізмом, не вміщують основних кисневопотребляючих

систем: мітохондрій та ендоплазматичної сітки. Утворення енергії в них відбувається шляхом субстратного фосфорилування АДФ в реакціях гліколізу, вони не здатні до синтезу білків та не мають ДНК [2, 5]. З іншого боку, еритроцити – це клітини, що постійно вміщують кисень в складі гемоглобіну та максимально стійкі до пошкоджуючої дії його активних форм. Постійна взаємодія з киснем викликає аутоокиснення гемоглобіну еритроцитів з утворенням супероксид-радикалів, а також інших АФК, головним чином, перекису водню і гідроксид-радикалів [9].

Таблиця 7.5

Рівень ЦІК та їх концентрація у крові щурів з пародонтитом та гінгівітом ($X \pm S_x$)

Показники		Інтактні щури (фізіологічний контроль)	Щури з експериментальним пародонтитом	Щури з експериментальним гінгівітом
ЦІК	г/л	1,90±0,02	1,94±0,08	2,42±0,08*
(>19 S)	%	44,5±1,2	44,0±1,2	38,0±1,2*
	г/л	0,84±0,04	0,85±0,04	0,93±0,04
(11S - 19S)	%	30,5±1,2	30,7±1,2	36,2±1,1*
	г/л	0,58±0,04	0,60±0,04	0,88±0,04*
(<11 S)	%	25,0±1,2	25,25±1,5	25,6±1,4
	г/л	0,48±0,02	0,50±0,02	0,62±0,02*

Примітки: * - $p < 0,05$; $n=20$ тварин у кожній групі.

Для захисту від них в еритроцитах існує потужна система антипероксидного та антирадикального захисту: СОД, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза та інші. Нами встановлено, що кількість еритроцитів периферичної крові в перші 30 хвилин експерименту при гінгівіті збільшувалося на 20,9% відносно контролю, а потім знижувалося та залишалося на 8%–10% менше, ніж в контролі до 150 хвилини. В подальшому, через 3 години після початку експерименту, мало місце різке (в 2,2 рази) зменшення кількості еритроцитів, яке через добу

незначно збільшилося. Однак, в цілому, концентрація КЕ в цій термін спостереження залишалася достовірно зниженою відносно контролю на 20%. Аналогічну динаміку мали зміни концентрації гемоглобіну (табл. 7.6).

Так, рівень Нв через 30 хвилин після початку експерименту збільшувався на 8%, а потім знижувався на 10%–15 % в наступні 120 хв., а на 180 хв. дослідження зменшення кількості еритроцитів досягало 30% відносно контролю. Через 6 годин та через добу концентрація Нв залишалася зниженою на 25% і 30% в порівнянні з контролем відповідно. Максимальне зниження КЕ і Нв в крові за часом вказує на активний гемоліз еритроцитів в цій період. Отримані нами результати узгоджуються з даними літератури в тому, що при різноманітних впливах на еритроцити, зокрема, перекису водню, спостерігається окиснення і денатурація гемоглобіну (утворення так званих тілець Гейнца), яка супроводжується вивільненням гема/геміну – ферріпротопорфіна ІХ [3]. При цьому, екзогенний гемін здатен легко вбудовуватися в мембрану, дестабілізуючи її та викликаючи гемоліз [3].

Таблиця 7.6

Динаміка змін гемоглобіну, кількості еритроцитів та гематокриту при гінгівіті ($X \pm S_x$)

Термін спостереження	Показники		
	КЕ, $10^{12}/л$	Нв, г/л	Нт, л/л
Контроль	6,75±0,12	116,0±3,6	36,5±1,8
30 хв.	8,23±0,25*	125,0±2,9*	46,0±1,2*
60 хв.	6,1±0,18*	104,0±2,2*	33,6±1,7
90 хв.	6,3±0,15*	98,0±4,1*	33,0±2,0
120 хв.	6,5±0,11*	100,0±3,7*	35,1±2,2
180 хв.	4,1±0,46*	81,0±4,0*	23,0±3,0*
6 год.	4,0±0,51*	88,0±3,6*	21,0±2,1*
24 год.	4,8±0,44*	82,0±4,1*	28,0±1,1*

Примітка: * $p < 0,05$ по відношенню до контролю.

Можливо, зміни КЕ і Нь обумовлені також і коливаннями гематокритного числа, що вказує на перерозподіл крові та порушення гемодинаміки при гіпоксії. Показник гематокриту у експериментальних тварин різко збільшувався в перші 30 хвилин дослідження (на 26% відносно контролю), що свідчило про згущення крові. До 60 хв. Нт повертався до нормального рівня. Однак, через 3 години Нт різко знижувався, складаючи лише 57% від рівня контролю і, практично, не відновлювався до висхідного рівня через добу, залишаючись на рівні 24% в порівнянні з контролем. Середній об'єм еритроцита не протязі доби після початку експерименту достовірно не змінювався. Разом з тим, на 90 хв. і через 180 хв. OE_{cp} був незначно знижений і тільки через добу відновлювався до рівня контролю. Середній вміст гемоглобіну в еритроциті (HbE_{cp}) змінювався протягом експерименту хвилеподібно: на 30 хв. цій показник знижувався (на 12% відносно контролю) та був подібним до 150 хв. дослідження (на 10%). Через добу середній вміст гемоглобіну в еритроциті практично відновлювався до висхідного рівня. Середня концентрація гемоглобіну в еритроцитах мала аналогічну динаміку, при цьому зміни цього показника були достовірними відносно контролю у всі терміни спостереження. Найменше значення $KHbE_{cp}$ відмічено через 30 хв. після введення нітриту натрію, найбільше – через 6 годин. Результати вивчення еритроцитарних індексів показали (табл. 7.7), що при гінгівіті середній об'єм еритроцита достовірно не змінюється, тоді як середній вміст гемоглобіну в еритроциті – HbE_{cp} – і середня концентрація гемоглобіну в еритроцитах – $KHbE_{cp}$ – зменшуються через 30 хв., а потім зростають (через 3 год. і 6 год.). При цьому через 24 години HbE_{cp} сягає рівня контролю, а $KHbE_{cp}$ залишається зниженою. Можливо, незначні зміни об'єму еритроцитів в сторону зменшення їх розмірів, що спостерігалось нами при гінгівіті в перші 6 годин обумовлено частковою дегідратацією та стисненням клітин за рахунок відкриття кальцій-залежних калієвих каналів (Гардос-ефект), яке відбувається під дією окиснювачів – продуктів пероксидації [23, 27].

Наше припущення засноване на даних літератури, де показано, що дія на еритроцити окиснювачів (феназин метосульфат, третбутиловий гідроперекис) призводить до активації кальцій-залежних калієвих каналів [3]. Автори вважають, що активація Гардос-каналів являється загальною властивістю клітинної відповіді при окиснювальних впливах [2]. При зменшенні об'єму еритроцитів відбувається збільшення HbE_{cp} і $КНbE_{cp}$, тоді як концентрація гемоглобіну в крові знижується. В подальшому зменшення об'єму клітин змінюється його збільшенням, що обумовлено плазмолізом внаслідок глибоких мембранодеструктивних змін. На гемоліз еритроцитів вказує різке зменшення їх кількості та концентрації гемоглобіну, починаючи з 180 хвилини дослідження. Таким чином, ми вважаємо, що подібна динаміка еритроцитарних індексів обумовлена мембранодеструктивними процесами в еритроцитах, змінами їх абсолютного числа внаслідок гемолізу, а також змінами гематокриту за рахунок перерозподілу крові.

Таблиця 7.7

Динаміка змін еритроцитарних індексів при гінгівіті ($X \pm S_X$)

Термін спостереження	Показники		
	OE_{cp}	HbE_{cp}	$КНbE_{cp}$
Контроль	54,1±1,2	17,2±0,1	317,0±2,7
30 хв.	55,9±1,6	15,2±0,3*	271,0±6,8*
60 хв.	55,1±1,9	17,1±0,4	309,0±10,1
90 хв.	52,4±1,5	15,5±0,4*	297,0±7,9*
120 хв.	53,9±1,5	15,4±0,1*	285,0±11,0*
150 хв.	55,9±1,2	15,0±0,4*	268,0±7,9*
180 хв.	56,0±1,3	19,8±0,6*	352,0±6,6*
6 год.	52,5±1,2	22,0±0,2*	419,0±6,0*
24 год.	58,0±1,3*	17,0±0,1*	292,0±6,3*

Примітка: * $p < 0,05$ по відношенню до контролю; $n = 6$ в групі тварин через кожні 30 хвилин.

Ці зміни, на нашу думку, мають велике значення в патогенезі захворювань пародонта, що вивчаються, та є ще одними маркерами кисневозалежних механізмів в патогенезі захворювань пародонта.

7.4. Енергетичний метаболізм мітохондрій при захворюваннях пародонта

При вивченні впливу мікроелементів та гормонального фактору на процеси резорбції та ремоделювання тканин пародонта, ми вирішили з'ясувати, наскільки енергетично забезпеченими є ці процеси. Аденілові нуклеотиди відносяться до числа найважливіших ефекторів. Аденозин-монофосфорна (АМФ) і аденозин-дифосфорна (АДФ) кислоти діють як позитивні ефектори, стимулюючи швидкість енергетичних процесів і підвищують вихід аденозин-трифосфору (АТФ). Енергетичний статус клітини має суттєве значення для підтримання таких життєво важливих функцій як: скоротлива, терморегуляторна, транспортна, обмінна. Зниження вмісту АТФ порушує, перш за все, енергозалежний процес фосфорилування – дефосфорилування мембранних білків і ліпідів, який забезпечує структурну цілісність мембран. Основними функціями мітохондрій є синтез АТФ, перенос електронів з НАДН до кисню з утворенням H_2O , окиснення ацетил-КоА з утворенням двох молекул CO_2 та ін. Зміни енергоутворюючої функції мітохондрій та їх значення в механізмах резорбції та ремоделювання м'яких тканин пародонту в доступній нам літературі не обговорювались [18].

Нами проведено біохімічне дослідження у щурів з пародонтитом та альвеолітом [16]. В першу добу експерименту встановлено однотипні зміни показників аденілової системи, які характеризувалися зниженням концентрації АТФ і компенсаторним підвищенням концентрації – АДФ і АМФ у гомогенаті еритроцитів (табл. 7.8). Вміст АТФ в групі щурів з пародонтитом був, в середньому, в 1,61 рази нижчим за норму ($632,7 \pm 15,2$ ммоль/л) і складав $391,2 \pm 15,2$ ммоль/л ($p < 0,05$); АДФ – в 1,59 рази вищим за норму ($372,1 \pm 13,7$ ммоль/л); АМФ також був підвищеним, в середньому, в

1,86 раз, у порівнянні з нормою ($53,5 \pm 2,6$ ммоль/л) і сягав $98,7 \pm 9,3$ ммоль/л ($p < 0,05$). Показник ЕЗЕ в групі з пародонтитом становив $0,83 \pm 0,02$ ($p < 0,05$), що, в середньому, в 2,59 рази нижче відповідного показника норми ($2,25 \pm 0,3$). В групі порівняння вміст АТФ в гомогенаті еритроцитів дорівнював $395,4 \pm 15,3$ ммоль/л ($p < 0,05$) що було в 1,59 рази нижче за норму; АДФ був вище відповідного показника норми в 1,58 рази ($p < 0,05$) та складав $367,4 \pm 13,4$ ммоль/л; АМФ сягав $96,3 \pm 9,3$ ммоль/л, що, в середньому, в 1,83 рази вище за норму ($p < 0,05$).

Показник ЕЗЕ в першу добу експерименту в групі тварин з альвеолітом становив $0,85 \pm 0,09$, що, в середньому, було в 2,57 рази нижче відповідного показника норми ($p < 0,05$). Отже, в обох групах тварин (як при пародонтиті, так і при альвеоліті) в першу добу експерименту були практично однакові порушення з боку показників аденілової системи ($p < 0,05$), що свідчить про однотипність в біохімічному плані.

Таблиця 7.8

Рівень аденілових нуклеотидів у щурів з пародонтитом і альвеолітом в порівнянні з групою інтактного контролю ($X \pm S_x$) – перша доба експерименту

Показники	Інтактний контроль (норма)	Щури з пародонтитом	Щури з альвеолітом
АТФ, ммоль/л	$632,7 \pm 15,2$	$391,2 \pm 15,2^*$	$395,4 \pm 15,3^*$
АДФ, ммоль/л	$232,1 \pm 6,2$	$372,1 \pm 13,7^*$	$367,4 \pm 13,4^*$
АМФ, ммоль/л	$53,5 \pm 2,6$	$98,7 \pm 9,3^*$	$96,3 \pm 9,3^*$
ЕЗЕ	$2,25 \pm 0,3$	$0,83 \pm 0,08^*$	$0,85 \pm 0,09^*$

Примітка. * - $p < 0,05$ відносно показників інтактної групи; $n=20$ тварин в кожній групі.

Одержані дані свідчать про суттєве зниження рівня АТФ у гомогенаті еритроцитів на фоні значного підвищення концентрації АМФ та АДФ. Найбільш вірогідно, це пов'язано з підвищенням енергетичних потреб організму в головній енергетичній субстанції за рахунок посилення опору в

кістковій системі пародонту, оскільки пародонтит та альвеоліт є енергозалежними процесами [8]. З іншого боку, такі зміни можуть бути обумовлені порушенням ресинтезу АТФ з ди- та монофосфатних форм в організмі щурів, внаслідок порушень енергетичного гомеостазу за рахунок гіпоксії, що розвивається, в м'яких тканинах пародонта [5, 7, 32, 33]. На третю добу експерименту динаміка усіх показників обміну аденілових нуклеотидів значно погіршилась. Однак на 7-у добу експерименту ми констатували покращення клінічного стану тварин: вони стали більш активними, волосяний покрив набував природного вигляду, з'явився апетит. Разом з тим, у деяких щурів ми відмічали випадіння частини зубів, особливо у тварин з пародонтитом. Біохімічні показники рівня аденілових нуклеотидів значно покращилися (табл. 7.10). Так, у щурів з пародонтитом вміст АТФ підвищувався, по відношенню до вихідного рівня, у середньому, в 1,43 рази і складав $559,4 \pm 16,5$ ммоль/л ($p < 0,05$). Показник АДФ складав $247,7 \pm 12,3$ ммоль/л, що було нижчим початкового показника в 1,46 рази та вірогідно не відрізнялась від інтактного контролю ($p < 0,05$). Вміст АМФ в гомогенаті еритроцитів по відношенню до вихідного показника знизився в 1,6 рази та складав $58,5 \pm 7,3$ ммоль/л, що, практично, відповідало верхній межі норми ($p < 0,05$). Показник ЕЗЕ, в порівнянні з вихідним значенням, збільшився, в середньому, в 2,04 рази та досяг $1,69 \pm 0,08$. В групі тварин з альвеолітом також була відмічена позитивна динаміка аденілових нуклеотидів, але менш виражена порівняно з групою щурів з пародонтитом. Рівень АТФ у щурів з альвеолітом підвищився, в середньому, в 1,2 рази по відношенню до інтактного контролю, але залишався в 1,37 рази нижче норми ($p < 0,05$) та в 1,2 рази відповідного показника тварин з пародонтитом ($p < 0,05$) і дорівнювала $469,8 \pm 14,5$ ммоль/л ($p < 0,05$) (табл. 7.9). Рівень АДФ знижувався відповідно інтактного контролю в 1,18 рази і складав $311,3 \pm 12,2$ ммоль/л, але залишався вищим за норму, у середньому, в 1,31 рази ($p < 0,05$) та показника групи щурів з пародонтитом – в 1,2 рази ($p < 0,05$). Концентрація АМФ у групі щурів з альвеолітом складала $82,7 \pm 8,4$ ммоль/л, що було в 1,54 рази

вищим за інтактний контроль ($p < 0,05$) та в 1,18 рази нижчим відповідного показника до інтактного контролю та даних першого дня експерименту, а також в 1,26 рази вищим показника щурів з пародонтитом.

Показник ЕЗЕ у щурів з альвеолітом складав $1,22 \pm 0,06$ та, в середньому, був в 1,82 рази нижчим норми ($p < 0,05$) та в 1,38 рази нижчим показника щурів з пародонтитом, та в 1,43 рази вищим вихідного значення. Одержані нами результати свідчить про те, що в процесі резорбції тканин пародонта починають включатися процеси ремоделювання тканин пародонта і ці процеси енергетично забезпечені мітохондріями, незважаючи на зміни в еритроцитах, які були вивчені нами раніше. Мітохондрії також є одним із кисневозалежних механізмів в патогенезі захворювань пародонта [24].

Таблиця 7.9

Рівень аденілових нуклеотидів у щурів з пародонтитом і альвеолітом на 7-й день експерименту ($X \pm S_x$)

Показники	Інтактний контроль (норма)	Щури з пародонтитом	Щури з альвеолітом
АТФ, ммоль/л	$643,2 \pm 17,2$	$559,4 \pm 16,5^*$	$469,8 \pm 14,5^*$
АДФ, ммоль/л	$232,0 \pm 6,2$	$247,7 \pm 12,3^*$	$311,3 \pm 12,2^*$
АМФ, ммоль/л	$53,5 \pm 2,6$	$58,5 \pm 7,3^*$	$82,7 \pm 8,4^*$
ЕЗЕ	$2,23 \pm 0,11$	$1,69 \pm 0,08^*$	$1,22 \pm 0,06^*$

Примітка. * - $p < 0,05$ відносно показників інтактної групи; $n=20$ тварин в кожній групі.

Висновки до розділу 7:

1. При низькій інтенсивності запального процесу в пародонті (альвеоліт) синтез та деградація колагену знаходиться у відносній рівновазі, а підвищення його інтенсивності (гінгівіт, і, особливо, пародонтит) – призводить до порушення цієї рівноваги. 2. Концентрація вільного та пептидзв'язаного оксипроліну в сироватці крові вища в групах з більш тяжким протіканням запального процесу в пародонті (пародонтит та гінгівіт).

3. При пародонтиті у кролів відбувається активація перекисного окиснення ліпідів і зниження активності антиоксидантних ферментних систем. 4. Виявлено однонаправленість змін перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантних ферментних систем як в сироватці крові, так і в гомогенаті тканин нижньої щелепи пародонта. 5. Зсуви, що відбуваються в системі ТБК-реактивних, каталази і церулоплазміну підтверджують, що в механізмі розвитку захворювань пародонта мають місце кисневозалежні механізми.

6. Концентрація CD8⁺ Т-лімфоцитів навколо кровеносних судин при гінгівіті та навколо дрібних слинних залоз при пародонтиті з лімфоепітеліальними та лімфоендотеліальними пошкодженнями свідчить про автоімунну цитотоксичну агресію в патогенезі вивчених захворювань. 7. При експериментальному моделюванні захворювань пародонта виявлені виражені порушення з боку еритроцитів та ЦІК: підвищення рівня ЦІК у сироватці крові практично однаково – у групі щурів з пародонтитом та гінгівітом в 1,60 рази та в 1,59 рази. Збільшення загального рівня ЦІК відбувалося, в основному, за рахунок збільшення найбільш токсигенних дрібно- (<11 S) і середньомолекулярних (11 S – 19 S) фракцій імунних комплексів. Абсолютний вміст середньомолекулярної фракції (11 S – 19 S) імунних комплексів у групі щурів з пародонтитом і гінгівітом була підвищена також практично однаково (в 2,0 рази в групі щурів з гінгівітом та в 2,02 рази в групі щурів з пародонтитом); концентрація дрібномолекулярних імунних комплексів відповідно 1,74 і 1,72 рази. 8. При гінгівіті розвивається окиснювальний стрес та посилення генерації АФК. 9. Зміни кількості еритроцитів, гемоглобіну і еритроцитарних індексів при гінгівіті обумовлені мембранодеструктивними процесами в еритроцитах, зменшенням їх абсолютного числа внаслідок гемолізу, а також змінами гематокриту за рахунок перерозподілу крові. 10. Встановлено, що захворювання сполучної тканини пародонту є енергозалежними процесами, що проявляється у вигляді зниження концентрації АТФ, на фоні підвищення АДФ та АМФ, відносно показників контрольної групи. 11. Мітохондрії енергетично забезпечують

процеси резорбції та ремоделювання тканин пародонта.

Список використаних джерел у Розділі 7:

1. Бизенкова М. Н. Общие закономерности метаболических расстройств при гипоксии различного генеза и патогенетическое обоснование принципов их медикаментозной коррекции : автореф. дис. ... канд. мед.наук : Саратов., 2008. 25 с.
2. Богомолец А. А. Продление жизни. К., 1940. 143 с.
3. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах. *Соровский образовательный журнал*. 2000. Т. 6, № 12. С. 13–19.
4. Влияние хронической ишемии на энергетический обмен мозга крыс с различной чувствительностью к кислородной недостаточности / В. Е. Романова и др. *Гипоксия в медицине*. 1996. № 3. С. 58.
5. Волкова М. Н. Иммунологические механизмы патогенеза воспалительных заболеваний пародонта. *Вестник ВГМУ*. 2009. Т. 8, № 3. С. 1–15.
6. Изменения кислородтранспортной функции крови при артериальной гипоксемии у людей пожилого и старческого возраста / О. В. Коркушко и др. *Буковинський медичний вісник*. 2011. Т. 15, № 3. С. 200–204.
7. Ковач І. В. Біохімічні показники сироватки крові щурів при експериментальному гінгівіті та карієсі, які викликали токсичні фактори. *Вісник стоматології*. 2005. № 2. С. 11–14.
8. Козлянина Н. П. Физиологическая антиоксидантная система десны и кости альвеолярного отростка в норме и при патологии : автореф. дис. ... канд. биол.наук : К., 2017. 16 с.
9. Нікольський І. С. Реакція системи крові на гіпоксичну гіпоксію та циркуляція гемопоетичних стовбурових клітин. *Environment and Health*. 2012. № 2. С. 79–80.
10. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньщикова и др. М. : «Слово», 2016. 556 с.
11. Определение свободного и связанного оксипролина в моче /

П. Н. Шараев и др. *Лабораторное дело*. 1990. № 12. С. 23–25.

12. Особенности состояния соединительной ткани паренхиматозных органов при обструктивных заболеваниях панкреатодуоденальной зоны / А. Н. Велигоцкий и др. *Проблеми сучасної медичної науки та освіти*. 2008. № 4. С. 18–19.

13. Павлов С. Б. Механізми участі фізіологічної системи сполучної тканини у формуванні патологічних процесів : дис. ... доктора біол. наук : 14.03.04 / Сергій Борисович Павлов. Суми, 2017. 394 с.

14. Скулачев В. П. Явления запрограммированной смерти. Митохондрии, клетки и органы: роль активных форм кислорода. *Соровский образовательный журнал*. 2001. Т. 7, № 6. С. 4–10.

15. Спосіб моделювання альвеоліту у лабораторних тварин (щурів) / В. Ф. Черемісіна, М. І. Гармаш, А. І. Березнякова // пат. 129440 Україна: МПК G09B 23/28. № 201805815; заявл. 24.05.2018; опубл. 25.10.2018, Бюл. № 20. 3 с.

16. Спосіб моделювання гінгівіту / А. П. Левицький, І. О. Селиванська, О. А. Макаренко, Л. М. Розсаханова, І. В. Ходаков // пат. 31011 Україна: МПК А61Р 31/00, А61К 35/56, А61С 7/00. № 200711608; заявл. 22.10.2007; опубл. 25.03.2008, Бюл. № 6. 3 с.

17. Сукманский О. И., Макаренко О. А. Экспериментальная модель генерализованного пародонтита. *Вісник стоматології*. 2006. № 2. С. 2–3.

18. Фролов В. М., Пересадин Н. А., Бойченко П. К. Диагностическое и прогностическое значение циркулирующих иммунных комплексов у больных. *Врачебное дело*. 1990. № 6. С. 116–118.

19. Черемісіна В.Ф., Березнякова А.І. Кисневозалежні механізми в патогенезі запальних захворювань пародонту. *Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку», присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України*. (Харків, 20 вересня 2019). Харків. С. 219-221.

20. Черемісіна В. Ф., Жемела О. Д., Гученко Г. П. Стан вільно-радикальних процесів та системи антиоксидантного захисту сполучної тканини пародонту у кролів при гідрокортизоновому пародонтиті. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2018. Т. 18, № 3 (63). С. 190-193.

21. Черемисина В. Ф. Роль маркера остеопороза – оксипролина в патогенезе пародонтита и гингивита. *Вісник морської медицини*. 2017. № 1 (74). С. 41–46.

22. Черемісіна В. Ф., Березнякова А. І. Оксипролін – основний маркер обмінних процесів в сполучній тканині. *Актуальні питання морфогенезу та ремоделювання тканин і органів у нормі та патології* : наук.-практ. конф. з міжнар. участю (Тернопіль, 20-21 вересня 2018). Тернопіль. С. 160-162.

23. Черемісіна В. Ф. Деякі гематологічні показники при експериментальному гідрокортизоновому пародонтиті у кролів. *Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики* : VII Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячених 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н.Зайка. (Полтава, 11-12 жовтня 2018). Полтава. С.123–124.

24. Черемісіна В. Ф. Зміни енергетичного метаболізму мітохондрій при захворюваннях пародонту в експерименті та їх значення в процесах резорбції та ремоделювання. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2017. № 1 (3). С. 42–46.

25. Черемісіна В. Ф. Порівняльна характеристика активності процесів прооксидантної та антиоксидантної систем у крові та тканинах пародонта. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : II Міжнар. наук.-практ. конф. (Харків, 28-29 берез. 2018). Харків. С. 312.

26. Черемісіна В. Ф. Пошук адекватних моделей для моделювання захворювань пародонту у людини. *XXII Міжнародний медичний конгрес*

студентів та молодих вчених. (Тернопіль, 23-25 квітня 2018). Тернопіль. С. 85.

27. Черемісіна В. Ф. Реакції еритроцитів дорослих щурів при гінгівіті за умов дихальної гіпоксії. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7 №1. С. 468–477.

28. Шараев П. Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови. *Лабораторное дело*. 1990. № 5. С. 283–285.

29. Berezniakova A. I., Cheremisina V. F. The level of circulatory immune complexes and their molecular content in rates with periodontal diseases. *European International Journal of Science and Technology*. 2017. Vol. 6, № 2. P. 41–45.

30. Cheremisina V. F., Bereznyakova A. I. Erythrocytes and their value in pathogenesis of parodontium inflammatory diseases. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9, № 4. P. 611-617.

31. Gupta R. K., Patel A. K., Shan N. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pac. J. Cancer Prev*. 2014. Vol. 15. P. 4405–4409.

32. Hamada Y., Fukagawa M. Chronic kidney disease (CKD) and bone. The mechanism of chronic kidney disease – mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Clin. Calcium*. 2009. Vol. 19, № 4. P. 486–492.

33. Miller P. D. Diagnosis and treatment of osteoporosis in chronic renal disease. *Semin. Nephrol*. 2009. Vol. 29, № 2. P. 144–155.

РОЗДІЛ 8

ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ АКТИВНОСТІ ЦИТОКІНІВ ТА МЕХАНІЗМИ ДІЇ РЕГУЛЯТОРНОГО ШЛЯХУ RANK-RANKL-OPG ПРИ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ ПАРОДОНТА

8.1. Вивчення ролі цитокінів (адипонектин, вісфатин) в механізмах регуляції процесів ремоделювання сполучної тканини пародонта при пародонтиті та альвеоліті

Адипокіни – адипонектин та вісфатин, окрім своєї основної функції регуляції енергетичного, а саме вуглеводного та жирового обміну, беруть також участь у регуляції ремоделювання кісткової тканини [6, 9, 24]. Адипонектин і вісфатин синтезуються та секретуються переважно в жировій тканині. Адипонектин забезпечує чутливість до інсуліну, він знижений у осіб з ожирінням та хворих на діабет [12, 25, 31, 34, 40, 48, 51]. Він є одним із ключових білків-регуляторів найважливіших метаболічних і катаболічних процесів, впливає на вуглеводний і ліпідний обміни [48], бере участь у регуляції кров'яного тиску, запобігає виникненню запальних процесів в ендотелії кровоносних судин [6, 9, 25, 31]. Припускався негативний вплив адипонектину на кісткову масу та зв'язок його рівня із нижчою кістковою масою [11]. Вісфатин має властивості цитокіну і ферменту, який бере участь у біосинтезі нікотинамідаденіндинуклеотиду. Він має інсулінімітуючу дію, стимулюючи транспорт глюкози в периферичні тканини і гальмуючи продукцію глюкози гепатоцитами. Подібно до інсуліну, вісфатин зв'язує інсуліновий рецептор, стимулює автофосфорилування рецептора і фосфорилування тирозину інших білків, включаючи білки-субстрати рецептора інсуліну. Цей адипокін має інші місця зв'язування з рецепторами клітинної поверхні, ніж інсулін, і не конкурує з ним [1, 29, 60]. Вісфатин також має імунomodulatory властивості [59]. Значна кількість циркулюючого вісфатину синтезується також і макрофагами [23, 56]. Експресія вісфатину макрофагами в місці пошкодження значно підвищується в разі дії на судинну стінку прозапальних агентів (наприклад, ліпопротеїдів

низької щільності) [30, 35]. Рекомбінантний вісфатин активізує лейкоцити і стимулює синтез цитокінів (IL-1, IL-6, ФНП- α) [25, 37, 62]. Істотну вагу мають дослідження характеру участі адипокінів – адипонектину та вісфатину в регуляції кісткового метаболізму в умовах його порушень [8, 11, 33, 49]. Тому, наступним етапом експериментів було вивчення ролі цитокінів (адипонектину та вісфатину) в механізмах регуляції резорбції та ремоделювання сполучної тканини пародонта при пародонтиті [15] та альвеоліті [13]. Під час дослідження рівня адипонектину у щурів із альвеолітом медіана вмісту адипонектину у сироватці склала 0,62 (0,58; 0,66) мкг/мл. Середній рівень адипонектину у щурів цієї групи був нижче, ніж у тварин контрольної групи ($p < 0,05$). У щурів з пародонтитом медіана вмісту адипонектину у сироватці склала 0,75 (0,71; 0,80) мкг/мл. Середній рівень адипонектину в щурів цієї групи був вищим за такий у тварин контрольної групи ($p < 0,05$) (табл. 8.1).

Таблиця 8.1

Значення середніх рівнів адипонектину та вісфатину у щурів при захворюваннях тканин пародонту ($\bar{X} \pm S_x$)

Група тварин	Адипонектин, мкг/мл	Вісфатин, нг/мл
Інтактний контроль	0,66 \pm 0,04	141,60 \pm 8,70
Щури з альвеолітом	0,63 \pm 0,01	133,25 \pm 10,27
Щури з пародонтитом	0,75 \pm 0,01*	171,95 \pm 9,87*

Примітка. * - $p < 0,05$ відносно показників інтактної групи.

Під час дослідження рівня вісфатину медіана його вмісту в сироватці щурів із альвеолітом склала 141,31 (61,96; 186,97) нг/мл. Середній рівень вісфатину в щурів цієї групи не відрізнявся від рівня тварин контрольної групи. Медіана вмісту вісфатину в щурів із пародонтитом становила 148,39 (110,74; 232,74) нг/мл. Середній рівень вісфатину в щурів цієї групи порівняно з контрольною групою підвищився ($p < 0,05$). Виміряна щільність кістки у щурів із альвеолітом була зниженою порівняно з контрольною групою (1,41 та 1,62 г/см³, відповідно) ($p < 0,05$). Щільність кістки у тварин з

пародонтитом мала тенденцію до зниження порівняно з рівнем контрольної групи щурів (1,53 та 1,62 г/см³, відповідно). Характер ролі адипонектину в кістковому метаболізмі є складним та неоднозначним. Кісткова резорбція підсилюється підвищенням рівня RANKL та інгібуванням продукції остеопротегерину, що відбувається в разі підвищення рівня адипонектину [38, 42, 58]. На остеобластах виявлено адипокінові рецептори, через які адипонектин посилює процеси проліферації, диференціації та мінералізації остеобластів [24, 51, 63]. Між рівнем адипонектину та мінеральною кістковою щільністю існує зворотне відношення [2, 7, 13, 56]. Знижений рівень адипонектину в щурів із пародонтиту можна пояснити прямим впливом дисбактеріозу на загальний енергетичний метаболізм, який складними взаємозв'язками комплексно регулює процеси ремоделювання кістки [45, 57, 61]. На висоті клінічної картини захворювання регуляторні механізми вичерпують адаптаційні резерви, знижується рівень адипонектину і його активуючий вплив на остеобласти. Відбувається посилення процесів резорбції у балансі ремоделювання кісткової тканини. Незмінний рівень вісфатину у тварин цієї групи може свідчити про складність та неоднозначність його ролі в регуляції кісткового метаболізму в умовах пародонтиту. Подальші дослідження мали визначити ступінь участі в регуляторних взаємодіях кісткового та енергетичного метаболізму як кожного окремого адипокіну, так і з урахуванням їх взаємозв'язків.

Важливе місце в дослідженнях молекулярних механізмів патогенезу захворювань пародонта займають міжклітинні медіатори, які відіграють ключову роль у функціонуванні процесів ремоделювання кісткової тканини [28, 41, 43, 55]. Кісткове ремоделювання є балансом взаємоантагоністичних за кінцевим результатом процесів резорбції і формування кісткової тканини. До клітин кістки, що здійснює ці процеси, зазвичай відносять остеокласти і остеобласти. Хоча вважається, що за утворення кісткової тканини відповідають остеобласти, а за її руйнування – остеокласти, в дійсності в організмі всі ці процеси виявляються набагато складнішими за рахунок

функціонування міжклітинних медіаторів, які беруть участь в регуляції цих процесів [2, 3, 10, 16, 39, 44]. Крім адипонектину та вісфатину в патогенезі захворювань пародонта задіяний IL-17, продукт Th17-клітин - CD4+ Т-лімфоцитів. Передбачається, що збільшення продукції IL-17 індукує втрату кісткової маси за рахунок збільшення проостеокластогенних цитокінів, включаючи TNF α , IL-6 і RANKL остеобластів. Функціональне блокування IL-17 запобігає втраті кісткової маси [50, 54]. Нами встановлено, що при запальному процесі в тканинах пародонта гістоморфологічно відбувається трансформація мікроциркуляторного русла, що проявляється в дистонії, розрідженні сітки капілярів кісткової тканини аж до появи аваскулярних ділянок. Як результат розладів мікроциркуляторного русла розвивається ішемія та гіпоксія кісткової тканини різного ступеня виразності. В кістковій тканині пригнічується активність остеобластів, переважають явища резорбції кісткової тканини [5, 26, 46, 47]. В експерименті показано, що у щурів із пародонтитом є значні відмінності цитокінового профілю від щурів контрольної групи. Рівень RANKL в групі тварин з пародонтитом був нижчим, ніж в контрольній групі (табл. 8.2). Рівні IL-1 Ra та IL-17 в групі тварин з пародонтитом були вищі, ніж в контрольній групі щурів ($p < 0,05$); рівень TGF β 1 був нижчим, чим в контролі. Між рівнями адипонектину в контрольній та експериментальній групах відмінностей не виявлено, як і у випадку з рівнем вісфатину (табл. 8.2).

Можна припустити, що зміни цитокінового профілю у щурів з пародонтитом пов'язані з початком переходу вже запущеного процесу резорбції кісткової тканини, ініційованого запаленням, в фазу компенсаторних реакцій. Про це свідчить зниження рівня RANKL та тенденція до підвищення рівня OPG. Можливо, альтерація, викликаючи першу стадію стресової реакції у тварин, дозволяє адаптаційним механізмам організму перейти в наступну стадію – стадію обмеженої резистентності. Підвищення рівня IL-1Ra також вносить внесок в процеси протидії впливу протизапальних цитокінів, до якого відноситься RANKL. Неоднозначно

можна трактувати зниження рівня TGF β в зв'язку з його модуляторними функціями в системі цитокінів.

Таблиця 8.2

Цитокіновий склад у щурів при пародонтиті ($X \pm S_x$)

Склад цитокінів	Одиниці вимірювання	Групи	
		контрольна	пародонтит
RANKL	пмоль/л	0,13 \pm 0,03	0,072 \pm 0,02*
OPG	пг/мл	21,59 \pm 2,01	28,9 \pm 3,50
IL-1Ra	пг/мл	2,53 \pm 0,13	3,77 \pm 0,24*
TGF β 1	нг/мл	26,33 \pm 0,62	24,54 \pm 0,55*
Адипонектин	мкг/мл	0,66 \pm 0,01	0,66 \pm 0,02
Вісфатин	нг/мл	141,61 \pm 8,70	134,08 \pm 8,77
IL-17	пг/мл	28,17 \pm 0,53	33,08 \pm 0,10*

Примітка. * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою тварин, $n=20$.

Підвищення ж рівня IL-17 підтверджує факт розвитку процесу запалення, яке було індуковане альтерацією м'яких тканин пародонту. В інтактних тварин виявлена позитивна кореляція між рівнями RANKL та адипонектину, RANKL та вісфатину, адипонектину та IL-17 та між рівнями IL-1Ra та IL-17, а також негативна кореляція між рівнями RANKL та IL-1Ra, вісфатину та IL-17, IL-1Ra та вісфатину, а також між рівнями TGF β 1 та RANKL (табл. 8.3). В літературі немає однозначної думки про взаємозв'язки між рівнем RANKL та адипонектинами, а також іншими прозапальними цитокінами. Так, наприклад, за даними деяких авторів адипонектин інгібує RANKL-індукований остеокластогенез; глобулярний адипонектин сильно гальмує TNF α /RANKL-індуковану диференціацію остеокластів. Адипонектин діє як потужний регулятор резорбції кістки при захворюваннях, пов'язаних з активацією цитокінів, і захворювання пародонта не є в даному випадку виключенням [41, 53].

Таблиця 8.3

Кореляція рівнів цитокінів в інтактної групи щурів ($X \pm S_x$)

Склад цитокінів	IL-17	OPG	Адипонектин	Вісфатин	IL-1Ra	RANKL
OPG	0,02					
Адипонектин	0,35*	0,09				
Вісфатин	-0,34*	-0,04	-0,11			
IL-1Ra	0,41*	-0,25	0,17	-0,46*		
RANKL	0,00	-0,09	0,30*	0,36*	-0,37*	
TGFβ1	0,06	-0,12	-0,17	0,00	0,42*	-0,65*

Примітка. * - коефіцієнти кореляції вірогідні при $p < 0,05$, $n = 20$.

За результатами інших авторів рекомбінантний адипонектин індукуює RANKL та інгібує експресію OPG в остеобластах людини шляхом AdipoR1/p38 MAPK, і ці реакції мають велике значення в адипонектин-індукованому утворенні остеокластів в культурі остеобластів. Тобто, в даному випадку, адипонектин збільшує утворення остеокластів опосередковано через стимуляцію RANKL та інгібування продукції OPG в остеобластах [42, 52]. Крім цього, було встановлено, що з розвитком остеопорозу рівень адипонектину реактивно підвищується із-за стимуляції його синтезу та секреції. Це, ймовірно, захищає кісткову тканину від подальших втрат. При цьому, рівень OPG в сироватці крові негативно корелює з величиною мінеральної щільності кістки, незважаючи на те, що він діє як «пастка» для RANKL та захищає кістку від остеопенії інгібуванням активності остеокластів [27, 43]. Таким чином, адипонектин, скоріше за все, обумовлює модулюючий вплив на кісткове ремоделювання, змінюючи глибину процесів резорбції, запуск яких забезпечується як RANKL, так і IL-1 та IL-17. Кореляції, що спостерігаються, між рівнями різних цитокінів можуть відображати точки включення їх в систему функціонування клітинно-молекулярних механізмів ремоделювання кісткової тканини.

Таблиця 8.4

Кореляція рівнів цитокінів в групі щурів з пародонтитом ($X \pm S_x$)

Склад цитокінів	IL-17	OPG	Адипонектин	Вісфатин	IL-1Ra	RANKL
OPG	0,52*					
Адипонектин	-0,30*	-0,36*				
Вісфатин	0,58*	-0,06	-0,04			
IL-1Ra	-0,09	-0,50*	-0,20	0,33*		
RANKL	0,29*	0,16	0,20	0,24	0,21	
TGFβ1	0,12	0,55*	-0,16	-0,30*	-0,30*	0,12

Примітка. * - коефіцієнти кореляції вірогідні при $p < 0,05$, $n = 20$.

В групі щурів з пародонтитом спостерігали позитивну кореляцію між рівнями RANKL та IL-17, OPG та TGFβ1, OPG та IL-17, IL-1Ra та вісфатину, IL-17 та вісфатину, а також негативну кореляцію між рівнями OPG та IL-1Ra, OPG та адипонектину, TGFβ1 та IL-1Ra, TGFβ1 та вісфатину, IL-17 та адипонектину (табл. 8.4) [17, 18, 20].

8.2. Механізми дії остеопротегерину, RANKL та інтерлейкіну 17 при запальних захворюваннях пародонта

Порушення метаболізму сполучної тканини, викликані пародонтитом, характеризуються дисбалансом в механізмах ремоделювання кісткової тканини [9, 27, 32]. Ремоделювання представляє собою пов'язані за часом процеси резорбції та формування кістки, що досягаються за рахунок міжклітинної взаємодії, опосередкованої впливом більшості цитокінів і факторів росту [14, 50, 56, 58]. Розумінню механізмів розвитку стероїдного остеопорозу сприяло відкриття системи регуляторних білків остеопротегерину (OPG) – активатора рецептора NF-κB-ліганд (RANKL) – RANKL, які розглядаються як основні сигнальні шляхи, які контролюють резорбцію кістки в фізіологічних та патологічних умовах [4, 9, 42]. Остеобласти синтезують і виділяють RANKL – ліганд рецептора-активатора

ядерного фактора-кВ. Останній активує RANK – рецептор-активатор ядерного фактора-кВ, що знаходиться на остеобластах. RANKL ініціює в остеокластах процеси резорбції кістки. В межах цієї системи функціонує також і остеопротегерин, який є рецептором-пасткою для RANKL [9, 23, 42, 58, 64]. Важливу роль в регуляції метаболізму кісткової тканини відіграє прозапальний цитокін – інтерлейкін-17 (IL-17), який продукується активованими Т-клітинами [50]. IL-17 здатний посилювати диференціацію остеобластів та їх функціональну активність через RANKL (прямим та непрямим шляхом) і інші остеокластогенні фактори, що призводить до формування кістково-деструктивних змін [30]. В експерименті при дослідженні щільності кістки нами було відмічено її зниження в групі тварин з пародонтитом ($1,431 \pm 0,038$ г/см³) у порівнянні з контрольною групою ($1,53 \pm 0,026$ г/см³), що підтверджує порушення ремоделювання кістки в цій групі. Однак, ця різниця була статистично незначуща. Як вказано в табл. 8.5, у тварин експериментальної групи рівні вмісту в крові цитокінів IL-17 та RANKL були достовірно вищі, ніж у інтактних тварин ($p \leq 0,05$).

Таблиця 8.5

Рівні цитокінів у щурів з пародонтитом ($X \pm S_x$)

Показники	Контрольні щури	Щури з пародонтитом
IL-17, пг/мл	$28,166 \pm 0,526$	$37,143 \pm 1,014^*$
RANKL, пмоль/л	$0,131 \pm 0,006$	$0,184 \pm 0,018^*$
OPG, пг/мл	$21,588 \pm 0,763$	$16,588 \pm 0,669^*$

Примітка. * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою тварин, n=20.

В той же час у групі тварин з пародонтитом сироватковий рівень OPG був достовірно нижчим аналогічного рівня у тварин контрольної групи ($p \leq 0,05$). В групі щурів з пародонтитом на 32 % підвищувався рівень прозапального цитокіну IL-17, що підтверджує дані літератури про те, що [50] призводить до втрати кісткової маси. IL-17 також знижує експресію OPG в клітинах остеобластів, що сприяє остеокластогенезу та зниженню щільності

тканини [56]. Одержані нами результати співпадають із літературними даними. При проведенні кореляційного аналізу було виявлено, що RANKL та OPG слабо корелюють один з одним в контрольній та експериментальній групах (табл. 8.6), що може свідчити про те, що в регуляції синтезу цитокінів задіяна велика кількість процесів, вплив яких не завжди відображають їх сироваткові рівні. В той же час в групі щурів з пародонтитом RANKL та OPG достовірно корелюють з прозапальним ІЛ-17. Це свідчить про те, що в експериментальній групі ІЛ-17 індукує експресію RANKL та інгібує продукцію остеопротегерину – ключових регуляторів остеокластогенезу, що призводить до втрати кісткової маси в цій групі тварин. Тобто, прозапальний цитокін є прямим стимулятором RANKL і одним із можливих патогенетичних механізмів. Тому, цілком вірогідно припустити, що ОПГ відіграє потенційну роль в порушеннях мінеральної щільності кістки при захворюваннях тканин пародонту.

Таблиця 8.6

Кореляційні зв'язки між цитокінами, RANKL та OPG при пародонтиті
($X \pm S_x$)

Показники	Контрольна група щурів		Порушення ремоделювання кісткової тканини при пародонтиті	
	ІЛ-17	RANKL	ІЛ-17	RANKL
RANKL	-0,003	-	0,54*	-
OPG	0,03	-0,09	0,64*	0,11

Примітка. * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою тварин, $n=20$.

Важливу роль у метаболізмі кісткової тканини відіграє рецепторний антагоніст інтерлейкіну-1 (ІЛ-1 RA), який є одним з найважливіших протизапальних факторів. ІЛ-1 RA блокує клітинний рецептор, специфічний для ІЛ-1 α та ІЛ-1 β , тим самим регулюючи активність потужного цитокіна запалення – ІЛ-1. Таким чином, оптимальний баланс співвідношення ІЛ-1 RA та ІЛ-1 забезпечує адекватну реакцію організму у відповідь на пошкодження, а його зміна неминуче призводить до порушення функціонування цитокінової

мережі, отже, й імунної системи в цілому [61, 64]. В експерименті при дослідженні щільності кістки гребеня ячеєвого краю нижньої щелепи щурів було відзначено його достовірне зниження в групі тварин з моделлю пародонтиту ($1,43 \pm 0,04$ г/см³) порівняно з контрольною групою ($1,62 \pm 0,04$ г/см³), що підтверджує порушення ремоделювання кістки в цій групі.

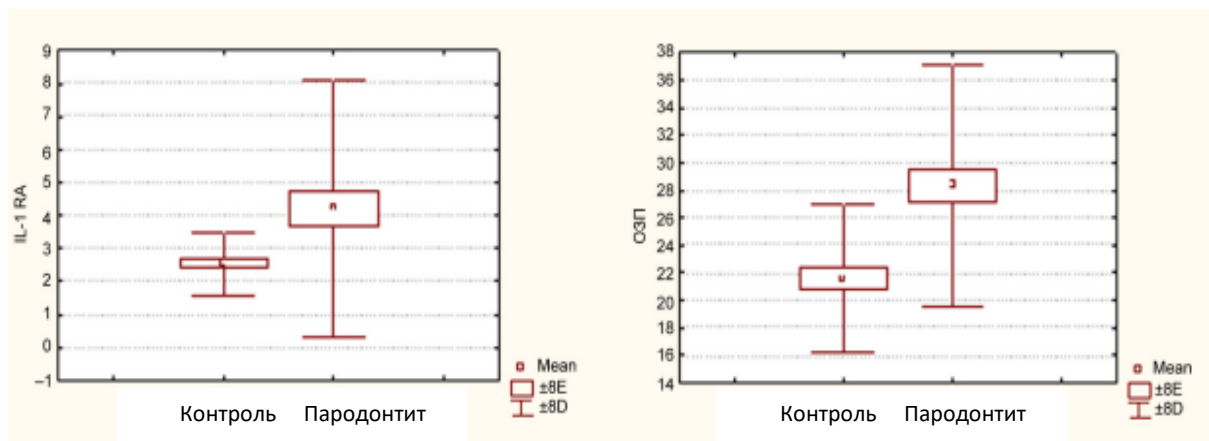


Рис. 8.1. Рівні цитокінів у контрольній та експериментальній групах

Як видно з рис. 8.1, у тварин з пародонтитом показник вмісту в крові цитокіну IL-1 RA ($4,2 \pm 0,61$ пг/мл) був достовірно вищим, ніж у інтактних тварин ($2,5 \pm 0,13$ пг/мл) ($p < 0,05$). Рівень ОПГ ($28,3 \pm 1,22$ пг/мл) був достовірно вищим за показники тварин з контрольної групи ($21,6 \pm 0,76$ пг/мл). Вміст IL-1 RA підвищувався на 66%, ОПГ – на 31%. Найбільш значним було збільшення вмісту протизапального цитокіну IL-1 RA, який синтезується для запобігання запальним реакціям, зумовленим IL-1.

При проведенні кореляційного аналізу було виявлено, що рівень IL-1 RA негативно корелював з рівнем ОПГ у контрольній групі й у групі щурів з пародонтитом, однак кореляція в контрольній групі не була значущою (табл. 8.7). Аналізуючи результати, можна припустити, що підвищення рівня ОПГ є гомеостатична відповідь на запалення при пародонтиті й, таким чином, регулює рівень кісткової маси. Крім того, підвищення рівня ОПГ у групі щурів з пародонтитом може свідчити про активацію Т-клітин. Ці припущення підтверджуються дослідженнями ряду авторів, які надали

докази зв'язку між ОПГ і кістковими порушеннями за умов хронічного запалення [64].

Таблиця 8.7

Кореляції параметрів цитокінів та остеопротегерину в контрольній та експериментальній групах ($X \pm S_x$)

Група щурів	Інтактні (контроль)	Щури з експериментальним пародонтитом
Показники		
Цитокіни	ІЛ-1 RA	ІЛ-1 RA
ОПГ	-0,25	-0,31*

Примітка. * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою тварин; $n=20$ – кількість тварин в кожній групі.

Таким чином, збільшення вмісту ОПГ у сироватці крові щурів у групі із пародонтитом можна розглядати як компенсаторну реакцію на підвищення активності остеокластів, а також як Т-клітинну імунну відповідь на запалення, що також підтверджується негативною кореляцією рівня ОПГ з рівнем протизапального цитокіну ІЛ-1 RA [19, 21].

Висновки до розділу 8:

1. При порушенні кісткового метаболізму у щурів з пародонтитом підвищуються рівні обох адипокінів (адипонектину та вісфатину).
2. Динаміка адипонектину та вісфатину при пародонтиті свідчить про значну участь адипокінів в процесах ремоделювання сполучної тканини.
3. Зникнення взаємозв'язків в системі нормальної регуляції ремоделювання сполучної тканини між одними парами цитокінів та появою їх між іншими парами свідчить про порушення в роботі регуляторних механізмів сполучної тканини при пародонтиті.
4. Характер зміни рівнів ІЛ-1RA і остеопротегерину має зворотню спрямованість процесів, що дозволяє припустити існування механізму зворотнього негативного зв'язку між порушеннями кісткового метаболізму й запальним процесом в пародонті, що реалізується у вигляді міжклітинних медіаторів.
5. При пародонтиті

підвищуються рівні RANKL та прозапального ІЛ-17, а вміст остеопротегерину знижується. 6. Виявлені кореляційні зв'язки між рівнем інтерлейкніу-17, RANKL та остеопрогерину свідчать про важливу роль досліджуваних цитокінів в механізмах резорбції та ремоделювання при пародонтиті.

Список використаних джерел у Розділі 8:

1. Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб. : Наука, 2008. 481 с.

2. Ершов Ф. И. Цитокины – новая генерация биотерапевтических лекарств. *Бюллетень РАМН*. 2006. № 9–10. С. 45–50.

3. Есипова А. А., Вилова Т. В. Хронические воспалительные заболевания пародонта как фактор риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у жителей европейского севера. *Врач-аспирант*. 2016. № 3 (1). С. 170–177.

4. Кушлинский Н. Е., Тимофеев Ю. А., Герштейн Е. С. Система RANK/RANKL/OPG при метастазах и первичных новообразованиях костей. *Молекулярная медицина*. 2013. № 6. С. 3–10.

5. Луцкая И. П. Заболевания пародонта. М. : Медицинская литература. 2010. 256 с.

6. Машейко И. В. Биохимические маркеры в оценке процессов ремоделирования костной ткани при остеопении и остеопорозе. *Журнал Гродненского государственного медицинского ун-та*. 2017. № 2. С. 149–153.

7. Мордвинов В. А. Цитокины: биологические свойства и регуляция экспрессии гена человеческого интерлейкина-5. *Бюллетень ВОГИС*. 2009. № 13. С. 53–67.

8. Намханов В. В., Будаев Б. А., Писаревский Ю. Л. Состояние пародонта в зависимости от потери минеральной плотности костной ткани человека. *Актуальные проблемы и перспективы развития стоматологии в условиях севера*. 2016. С. 203.

9. Нуруллина Г. М., Ахмадуллина Т. М. Костное ремоделирование в норме и при первичном остеопорозе : значение маркеров костного ремоделирования. *The Russian Archives of Internal Medicina*. 2018. № 2. С. 100–110.

10. Патогенетическая взаимосвязь воспалительных заболеваний пародонта с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью / Ю. Л. Осипова и др. *Фундаментальные исследования*. 2015. № 1-7. С. 1397–1400.

11. Подковкин В. Г., Иванов Д. Г., Иванов Г. А. Влияние постоянного магнитного поля на состояние костной ткани крыс с повышенным уровнем резорбции. *Успехи современного естествознания*. 2008. № 7. С. 13–16.

12. Роль мезенхимальных мультипотентных стромальных клеток в ремоделировании костной ткани / М. В. Киселевский и др. *Медицинская иммунология*. 2018. № 4 (20). С. 515–522.

13. Спосіб моделювання альвеоліту у лабораторних тварин (щурів) / В. Ф. Черемісіна, М. І. Гармаш, А. І. Березнякова // пат. 129440 Україна: МПК G09B 23/28. № 201805815; заявл. 24.05.2018; опубл. 25.10.2018, Бюл. № 20. 3 с.

14. Спосіб оцінки агрегаційної активності тромбоцитів / С. Б. Павлов, Н. М. Бабенко, М. В. Кумечко, Л. В. Черних // пат. 77372 Україна: МПК G01N 33/86. № 201209532; заявл. 06.08.2012; опубл. 11.02.2013, Бюл. 3. 4 с.

15. Сукманский О. И., Макаренко О. А. Экспериментальная модель генерализованного пародонтита. *Вісник стоматології*. 2006. № 2. С. 2–3.

16. Черемісіна В. Ф. Цитокинові механізми при запальних захворюваннях пародонту, які змінюють ремоделювання сполучної тканини. *Бюлетень XVI читань ім. В. В. Підвисоцького*. (Одеса, 21-22 травня 2019). Одеса. С. 186-187.

17. Черемисина В. Ф. Цитокины и их участие в ремоделировании костной ткани пародонта. *Бюлетень XVI чтений им. В. В. Подвысоцкого*. (Одеса, 18-19 травня 2017). Одеса. С. 371–372.

18. Черемісіна В. Ф., Березнякова А. І. Взаємозв'язки рівнів продукції цитокінів у механізмах регуляції процесів ремоделювання кісткової тканини при пародонтиті. *Світ медицини та біології*. 2018. № 2 (64). С. 181–185.
19. Черемісіна В. Ф. Значення остеопротегерину, RANKL, інтерлейкіну-17 в механізмах порушення кісткового метаболізму. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 7. С. 1257–1264.
20. Черемісіна В. Ф. Роль адипокінів в регуляції кісткового ремоделювання при захворюваннях м'яких тканин пародонту. *Буковинський медичний вісник*. 2017. Т. 21, № 2 (82). С. 118–121.
21. Черемісіна В. Ф. Роль остеопротегерину в механізмах розвитку вторинного остеопору при моделюванні пародонтиту. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2017. № 4 (50). С. 110–114.
22. Чеснокова Н. П., Понукалина Е. В., Бизенко М. Н. Молекулярно-клеточные механизмы индукции свободно-радикального окисления в условиях патологии. *Современные проблемы науки и образования*. 2006. № 6. С. 21–26.
23. Adiponectin and AMP kinase activator stimulate proliferation, differentiation and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells / I. Kanazawa et al. *BMC Cell Biology*. 2007. Vol. 8. P. 51–62.
24. Adiponectin, and Unlocking Adipocytokines / Y. Sun et al. *Cardiovascular Therapeutics*. 2009. Vol. 27. P. 59–75.
25. Barrett-Connor E., Kritz-Silverstein D. Adipose tissue produces and releases a variety of proinflammatory and antiinflammatory factors including TNF- α , leptin, adiponectin, and resistin. *Diabetes Care*. 1996. Vol. 19, № 12. P. 1388–1392.
26. Braun T., Schett G. Pathways for bone loss in inflammatory disease. *Curr. Osteoporos*. 2012. Vol. 10. P. 101–108.
27. Cheung W. W., Zhan J. Y., Paik K. H. The impact of inflammation on bone mass in children. *Pediatr. Nephrol*. 2011. Vol. 26, № 11. P. 1937–1943.

28. Edwards C. J., Williams E. The role of interleukin-6 in rheumatoid arthritis-associated osteoporosis. *Osteoporos.* 2010. Vol. 21. P. 1287–1293.
29. Eijken M., Kordam M., Van Driel M. The essential role of glucocorticoids for proper human osteoblast differentiation and matrix mineralization. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2006. Vol. 248. P. 87–93.
30. Elevated levels of plasma osteoprotegerin are associated with all-cause mortality risk and atherosclerosis in patients with stages 3 to 5 chronic kidney disease / M. M. Nascimento. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2014. Vol. 22. P. 1–8.
31. Factors Associated with Periodontal Disease in Pregnant Diabetic Women / N. Anwar et al. *Mymensingh Med. J.* 2016. Vol. 25, №. 2. P. 289–295.
32. FGF-23 and osteoprotegerin are independently associated with myocardial damage in chronic kidney disease stages 3 and 4. Another link between chronic kidney disease-mineral bone disorder and the heart / M. L. Ford et al. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2016. Vol. 27, №. 2. P. 727–733.
33. Gal-Moscovici A., Sprague S. M. Bone health in chronic kidney disease mineral and bone disease. *Adv. Chronic Kidney Dis.* 2007. Vol. 14, № 1. P. 27–36.
34. Hakeda Y. Action of glucocorticoid on bone-forming and bone-resorbing cells. *Clin. Calcium.* 2006. Vol. 16, № 11. P. 1817–1822.
35. Histopathological and clinical expression of periodontal disease related to the systemic inflammatory response / A. Lonel et al. *Histol. Histopathol.* 2017. Vol. 32, №. 4. P. 379–384.
36. Increased circulating levels of osteoclastogenesis inhibitory factor (osteoprotegerin) in patients with chronic renal failure / J. J. Kazama et al. *Am. J. Kidney Dis.* 2002. Vol. 39, № 3. P. 525–532.
37. Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization / T. B. Dahl et al. *Circulation.* 2007. Vol. 115. P. 972–980.
38. Influence of adipokines and ghrelin on bone mineral density and fracture risk: a systematic review and meta-analysis / E. Biver et al. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2017. Vol. 96, №. 9. P. 2703–2713.

39. Interleukin-6 and interleukin-11 support human osteoclast formation by a RANKL-independent mechanism / O. Kudo et al. *Bone*. 2003. Vol. 32, № 1. P. 1–7.
40. Jia D., O'Brien C. A., Stewart S. A. Glucocorticoids act directly on osteoclasts to increase their life span and reduce bone density. *Endocrinology*. 2006. Vol. 147. P. 5592–5599.
41. Kwan T. S., Padrines M., Theoleyre S. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine and Growth Factor Reviews*. 2004. Vol. 15. P. 49–60.
42. Lua X. H., Guo L. I., Xie H. Adiponectin stimulates RANKL and inhibits OPG expression in human osteoblasts through the MAPK signaling pathway. *J. Bone Miner. Res.* 2006. Vol. 21, № 10. P. 1648–1656.
43. McLean R. R. Proinflammatory cytokines and osteoporosis. *Curr. Osteoporos Rep.* 2009. № 7. P. 134–139.
44. Miller P. D. Diagnosis and treatment of osteoporosis in chronic renal disease. *Semin Nephrol.* 2009. Vol. 29, № 2. P. 144–155.
45. Muhvic-Urek M., Tomac-Stojmenovic M., Mijandrusic-Sincic B. Oralpathology in inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterology*. 2016. Vol. 22, № 25. P. 5655–5667.
46. Palmqvist P., Lundberg P., Persson E. Inhibition of hormone cytokine-stimulated osteoclastogenesis and bone resorption by interleukin-4 and interleukin-13 is associated with increased osteoprotegerin and decreased RANKL and RANK in a STAT6-dependent pathway. *Biological Chemistry*. 2016. № 281. P. 2414–2429.
47. Palmqvist P., Persson E., Conaway H. H. IL-6, leukemia inhibitory factor, and oncostatin M stimulate bone resorption and regulate the expression of receptor activator of NF- κ B ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF- κ B in mouse calvariae. *Journal Immunology*. 2002. Vol. 169. P. 3353–3362.

48. Periodontal disease in diabetic patients – clinical and histopathological aspects / D. CorlanPuscu et al. *Rom. J. MorpholEmbryol.* 2016. Vol. 57, №. 4. P. 1323–1329.

49. Predictors of low bone mineral density in elderly males with chronic obstructive pulmonary disease: the role of body mass index / A. Coin, G. Sergi, S. Marin [et al.] // *Aging Male.* 2010. Vol. 13, №. 2. P. 142–147.

50. Ramani K., Pawaria S., Maers K. An essential role of interleukin-17 receptor signaling in the development of autoimmune glomerulonephritis. *J. Lekoc. Biol.* 2014. Vol. 96 (3). P. 463–472.

51. Regulation of bone formation by adiponectin through autocrine/paracrine and endocrine pathways / Y. Shinoda et al. *J. Cell Biochem.* 2006. Vol. 1, № 99. P. 196–208.

52. Serum adiponectin, leptin and bone mineral density in postmenopausal women / X. Lei et al. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2009. Vol. 34, №. 6. P. 559–562.

53. Serum osteoprotegerin measurement for early diagnosis of chronic kidney disease-mineral and bone disorder / J. Q. Jiang et al. *Nephrology.* 2017. Vol. 39, №. 3. P. 525–532.

54. Skulachev V. P. Mitochondria-targeted antioxidants as promising drugs for treatment of age-related brain disease. *J. Alzheimers Dis.* 2012. Vol. 28. P. 283–289.

55. The RANKL / OPG system is activated in inflammatory bowel disease and relates to the state of bone loss / A. R. Moschen et al. *Gut.* 2015. Vol. 54. P. 479–487.

56. Tu Q., Zhang J., Dong L. Q. Adiponectin inhibits osteoclastogenesis and bone resorption via APPL1-mediated suppression of Akt. 1. *J. Biol. Chem.* 2011. Vol. 286, № 14. P. 12542–12553.

57. Tyrrell K. L., Citron D. M., Jenkins J. R. Periodontal bacteria in rabbit mandibular and maxillary abscesses. *Journal of Clinical Microbiology.* 2002. Vol. 40. P. 1044–1047.

58. Vamaguchi N., Kukita T., Li V. Adiponectin inhibits induction of TNF-alpha/RANKL-stimulated NFATc1 via the AMPK signaling. *FEBS Lett.* 2008. Vol. 582, № 3. P. 451–456.
59. Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties / A. R. Morchen et al. *Immunology.* 2017. Vol. 178. №. 3. P. 1748–1758.
60. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin / A. Fukuhara et al. *Science.* 2015. Vol. 307. P. 426–430.
61. Walsh M. C., Choi Y. Biology of the RANKL-RANK-OPG system in immunity, bone and beyond. *Front. Immunol.* 2014. Vol. 5. P. 511.
62. Yoshitake F., Itoh S., Narita H. Interleukin-6 directly inhibits osteoclast differentiation by suppressing receptor activator of NF-kappaB signaling pathways. *Journal Biological Chemistry.* 2008. Vol. 283. P. 11535–11540.
63. Zupan J., Komadina R., Marc J. The relationship between osteoclastogenic and anti-osteoclastogenic pro-inflammatory cytokines differs in human osteoporotic and osteoarthritic bone tissues. *Journal of Biomedical Science.* 2012. №. 19. P. 28–32.
64. Zwerina I., Redlich K., Polzer K. TNF-induced structural joint damage is mediated by IL-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. Vol. 104, № 28. P. 11742–11747.

РОЗДІЛ 9

МОРФОЛОГІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МАТЕРІАЛУ, ОТРИМАНОВОГО У ЩУРІВ ТА КРОЛІВ ІЗ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ПАРОДОНТА

Гістоморфологічне вивчення експериментального матеріалу, отриманого у щурів із захворюваннями пародонта проведено кандидатом біологічних наук, доцентом кафедри гістології Харківського національного медичного університету Десвою Тетяною Володимирівною, за що виражаємо щирю вдячність Тетяні Володимирівні за глибокий та всесторонній аналіз процесів резорбції та ремоделювання в тканинах пародонта при запальних його захворюваннях, який допомагав докторанту та його науковому керівнику при аналізі вивчення одержаних результатів проведених експериментів.

9.1. Морфологія пародонтита у кролів (за методикою Alpdogan Kantaci, 2000 р.)

Брали фрагменти нижньої щелепи в ділянці різців із зубами і яснами, фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, декальціювали в 5 % розчині азотної кислоти, контроль тривалості витримки зразків в декальційованій рідині проводили шляхом проколювання кістки препарувальною голкою. Після проведення по спиртам висхідної концентрації тканини заливали в целоїд-парафін. Із блоків виготовляли зрізи товщиною 6-8 мкм, які фарбували гематоксиліном та еозином [3, 4, 8]. Світлооптичні дослідження мікропрепаратів провели з використанням мікроскопу СЕТІ, поєднаною з цифровою камерою SIGETA. Для перегляду, зберігання та обробки мікрофотографій використовували програмне забезпечення для цифрових камер SIGETA [4].

Для об'єктивізації одержаних даних проводили морфометричне вимірювання. За допомогою програмного забезпечення TourView на мікропрепаратах визначали діаметр гаверсових каналів альвеолярної кістки (об'єktiv $\times 10$). Статистичну обробку одержаних цифрових даних проводили

із застосуванням непараметричного методу Манна-Уїтні [2].

У інтактних тварин корені зубів занурені в альвеолярні відростки, до яких вони прикріплюються за допомогою сполучнотканинних волокон періодонтальної зв'язки. Волокна останньої чітко орієнтовані та щільно зрощені з цементом кореня. Клітинні елементи періодонта нечисленні та представлені в основному клітинами фібробластичного ряду, судини помірно кровонаповнені чи порожні. Біля краю зубної альвеоли періодонт переходить в ясна. Поверхня самої альвеолярної кістки гладенька та рівна, вершина конусоподібної форми. При патології кістка представлена компактною пластинчастою кістковою тканиною з високою щільністю численних крупних остеоцитів, що знаходяться у вузьких лакунах.

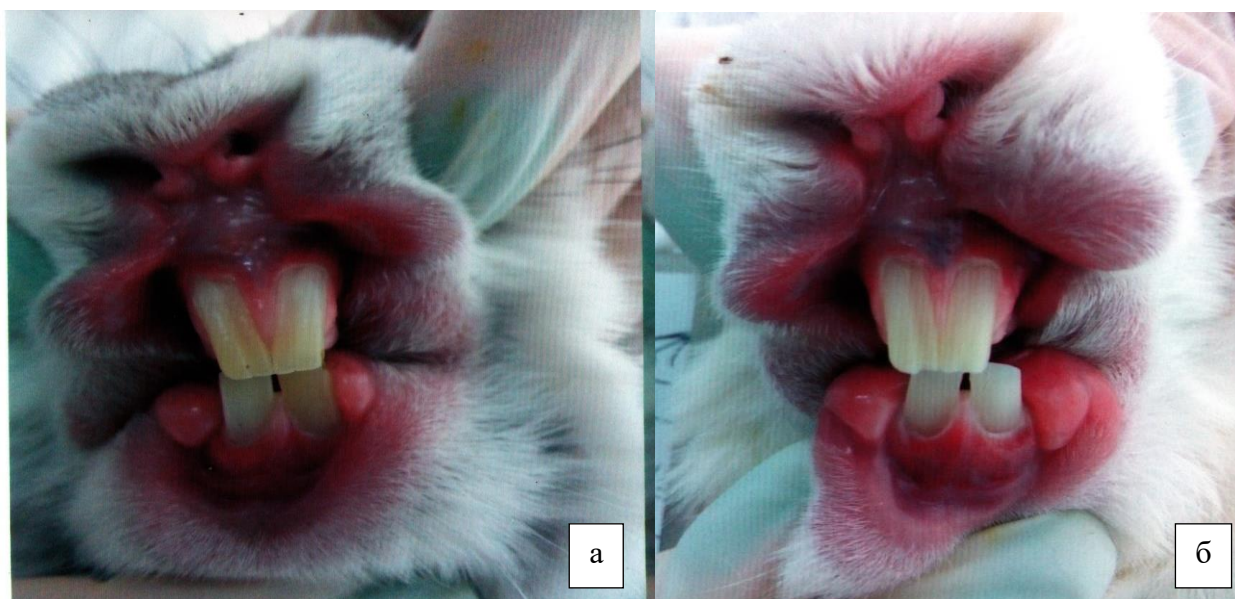


Рис. 9.1. Пародонтит у кролів: а – інтактний контроль; б – контрольна патологія.

В середньому в групі діаметр судинного каналу дорівнював 35,75 мкм. Проміжна речовина помірно оксифільна, майже гомогенна, з тонкими, але добре видимими, базофільними лініями склеювання. Гаверсові канали більшості остеонів мають незначний діаметр, а судини, що знаходяться в порожнині каналів, - дещо кровонаповнені і мають тонкі стінки. Внутрішні стінки каналів рівні, їх межі окреслені (рис. 9.2, а).

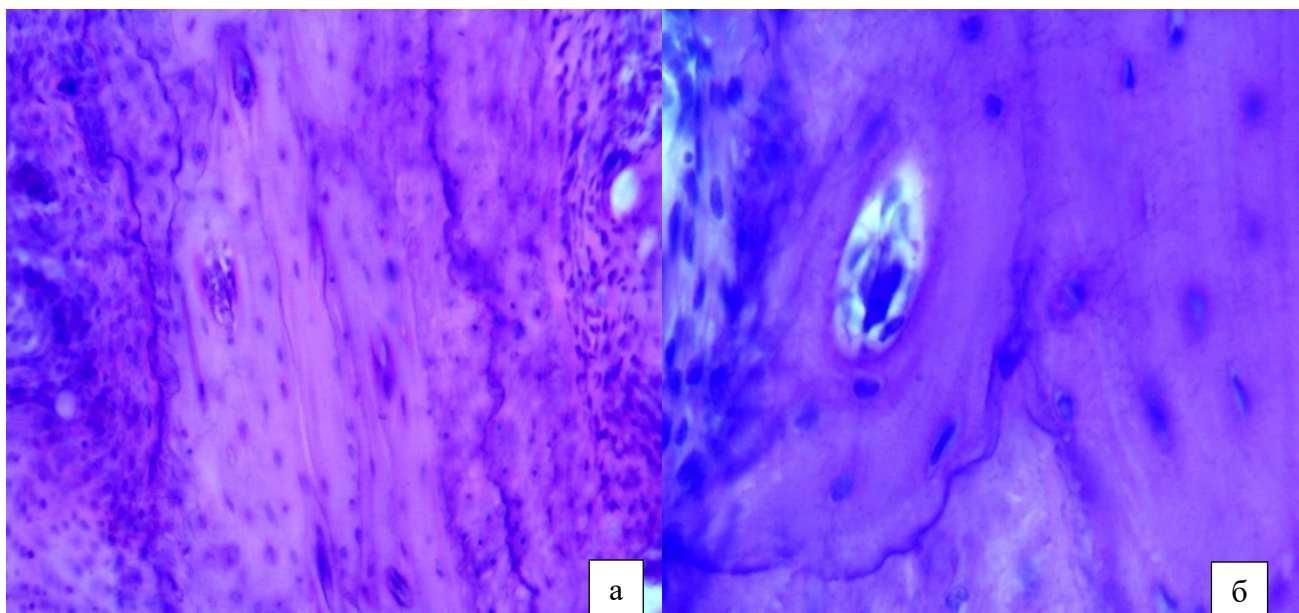


Рис. 9.2 Альвеолярна кістка, інтактний контроль. Кістка зберігає свою компактність, гаверсові канали вузькі. Остеоцити крупні, знаходяться в невеликих лакунах. Гематоксилін та еозин $\times 250$ (а), $\times 400$ (б)

Мішенню гідрокортизону передбачено виявляється альвеолярна кістка і, в меншому ступені, - м'які тканини ясен та періодонтальної зв'язки.

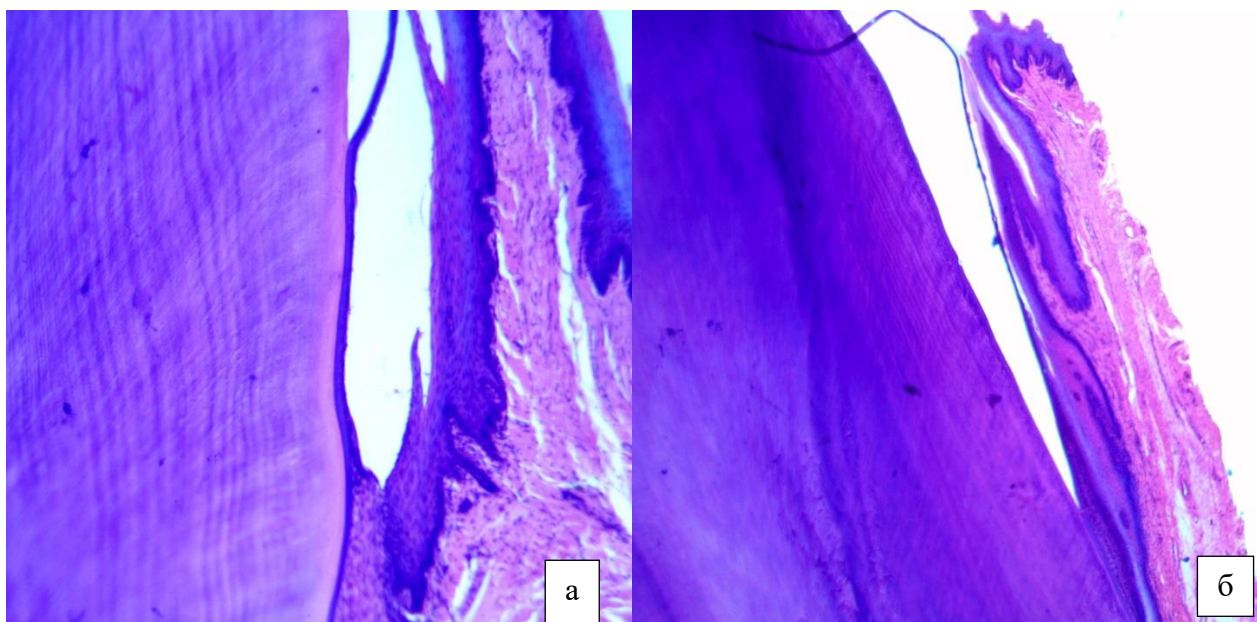


Рис. 9.3. Емалево-цементна межа інтактної тварини (а) та тварини з пародонтитом (б). Емалево-цементне сполучення не порушено. Гематоксилін та еозин $\times 100$.

У половині випадків ін'єкції гідрокортизону грубо порушують

сполучення періодонтальної зв'язки з альвеолярною кісткою в ділянці верхівки та середньої частини зуба (рис. 9.4).

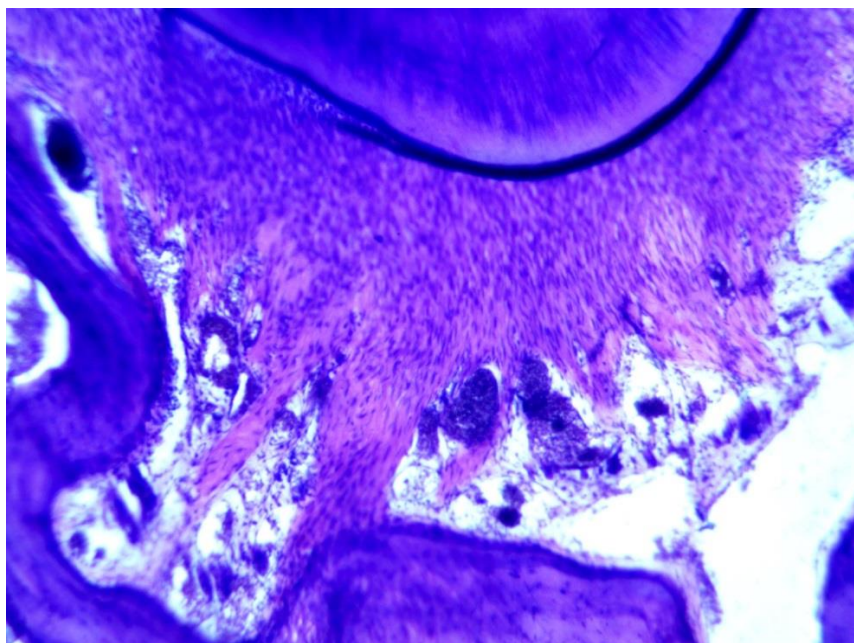


Рис. 9.4. Пародонт кроля при патології. Сполучення волокон періодонтальної зв'язки з альвеолярною кісткою в області верхівки зуба порушено. Гематоксилін та еозин $\times 250$.

Спостерігається, як волокна зв'язки відриваються від окістя, чіпляючись за нього вузькими «хвостиками». В сформованій порожнині починає формуватися пухка сполучна тканина з тонкостінними судинами. Клітинна інфільтрація незначна. При цьому зуб тримається в лунці за рахунок збережених сполучень в шийковій частині кореня та щільного емалево-цементного сполучення. Сама альвеолярна кістка, як бічна, так і міжзубна, практично у всіх спостереженнях з ознаками лакунарної резорбції, яка проявляється в зазубреності і поїдені бічних країв. Утворені заглиблення заміщаються розростаючою сполучною тканиною (рис.9.5, а). Руйнування кістки супроводжується збільшенням числа остеокластів, що відповідають за резорбцію кісткової тканини: вогнищево можна бачити проліферуючі великі багатоядерні клітини неправильної форми з базофільною цитоплазмою, що лежать на підкладці зі сполучної тканини в безпосередній близькості від поверхні альвеолярної кістки (рис.9.5, б). Остеокласти молоді, невеликих

розмірів, що містять не більше 2-3 ядер.

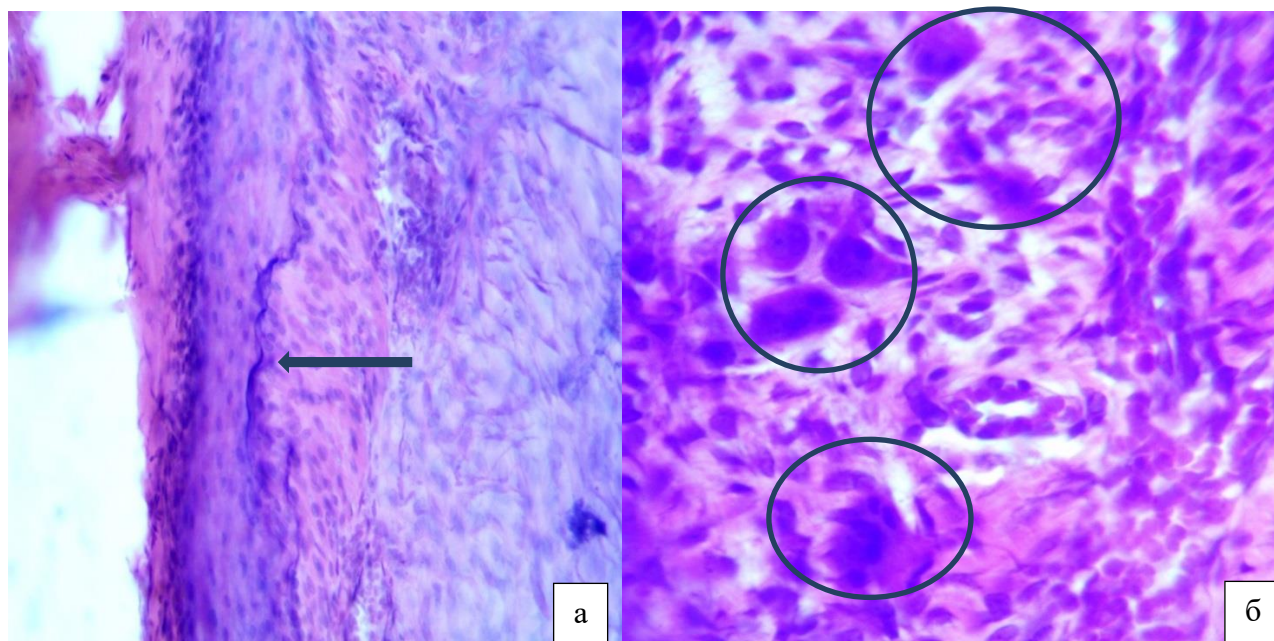


Рис. 9.5. Пародонт кроля при патології. Зазубринки бічної альвеолярної кістки (стрілка). Поглиблення заповнене сполучною тканиною. Багатоядерні остеокласти в періостальній сполучній тканині (овали). Гематоксилін і еозин x 250 (а), x 400 (б).

Результатом такої активної резорбції є порушення організації компактної кісткової тканини, від остеонів часто залишаються тільки уламкові структури, а кістка складається з хрящеподібної тканини. У збережених остеонах погано помітні лінії склеювання, остецити нечисленні. Звертає на себе увагу виражена вогнищева мозаїчність компактної речовини, окреслена пересічними потоками проміжної речовини, що має різну ступінь оксіфілії і базофілії забарвлення. Місцями виявляється фібрилярність міжклітинної речовини, що є наслідком оголення колагенових волокон (рис. 9.6, 9.7).

Канали деяких гаверсових систем в результаті активної резорбції набувають розмірів, що наближаються до розмірів міжбалкових просторів губчастої кістки (рис. 9.7, 9.8, 9.9). Середній діаметр судинних каналів в цій групі в 3 рази перевищує аналогічні показники інтактних тварин і становить в середньому 105,85 мк. Їх внутрішня поверхня місцями нерівна, з сидячими

на ній остеокластами (рис. 9.8, а).

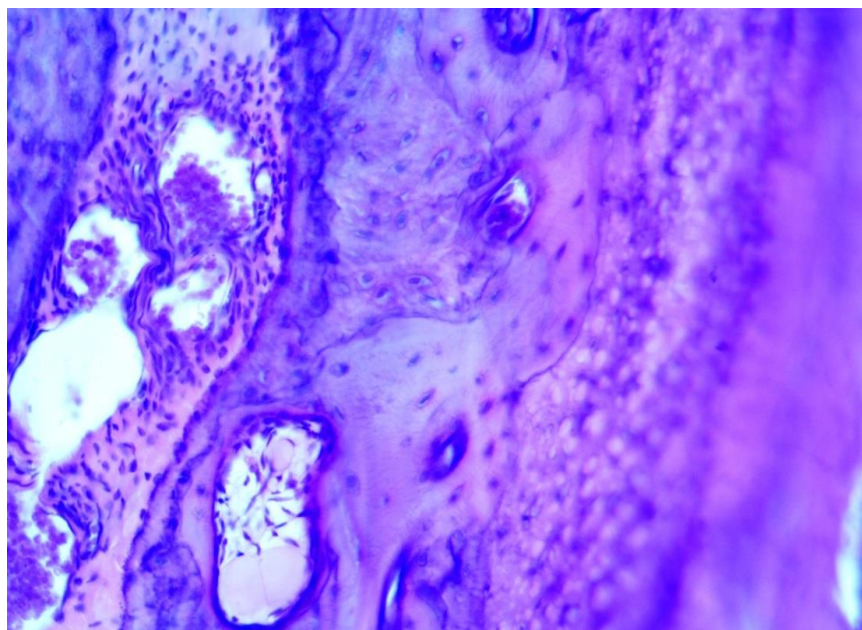


Рис. 9.6. Пародонт кроля при патології. Руйнуються остеони, розширені судинні канали (стрілка), мозаїчність міжклітинної матриксу. Гематоксилін і еозин x 250

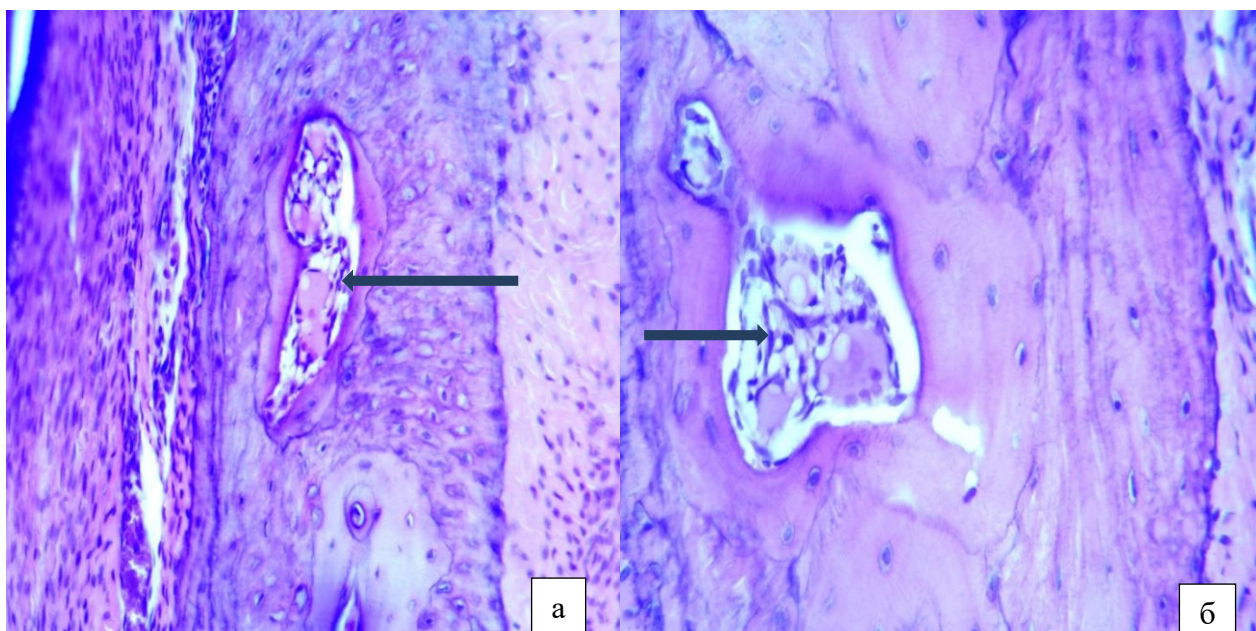


Рис. 9.7. Пародонт кроля при патології. Уламкові структури на місці остеонів, остецити нечисленні, хрящеподібна тканина. Гаверсові канали дуже великого діаметру (стрілки), судини кровонаповнені з проліферацією адвентиції (а, б). Гематоксилін і еозин x 250

Просвіти каналів можуть бути порожніми, але частіше клітини адвентиції кровоносних судин в просвіті каналів проліферують, що призводить до розростання волокнистої сполучної тканини навколо розширених і повних судин (рис. 9.7, 9.8).

Зрідка в просвіті розширених судинних каналів визначаються кальцифікати, які є або результатом тромбозу судини, або результатом декальцифікації кістки (рис. 9.9). Часто від остеона залишається лише розширений канал, стоншена стінка якого представлена однією кістковою пластинкою або складається тільки з фібрилярних різко базофільних структур, тоді як в нормі в ній визначаються кілька пластинок кісткової тканини (рис. 9.8 б, 9.9).

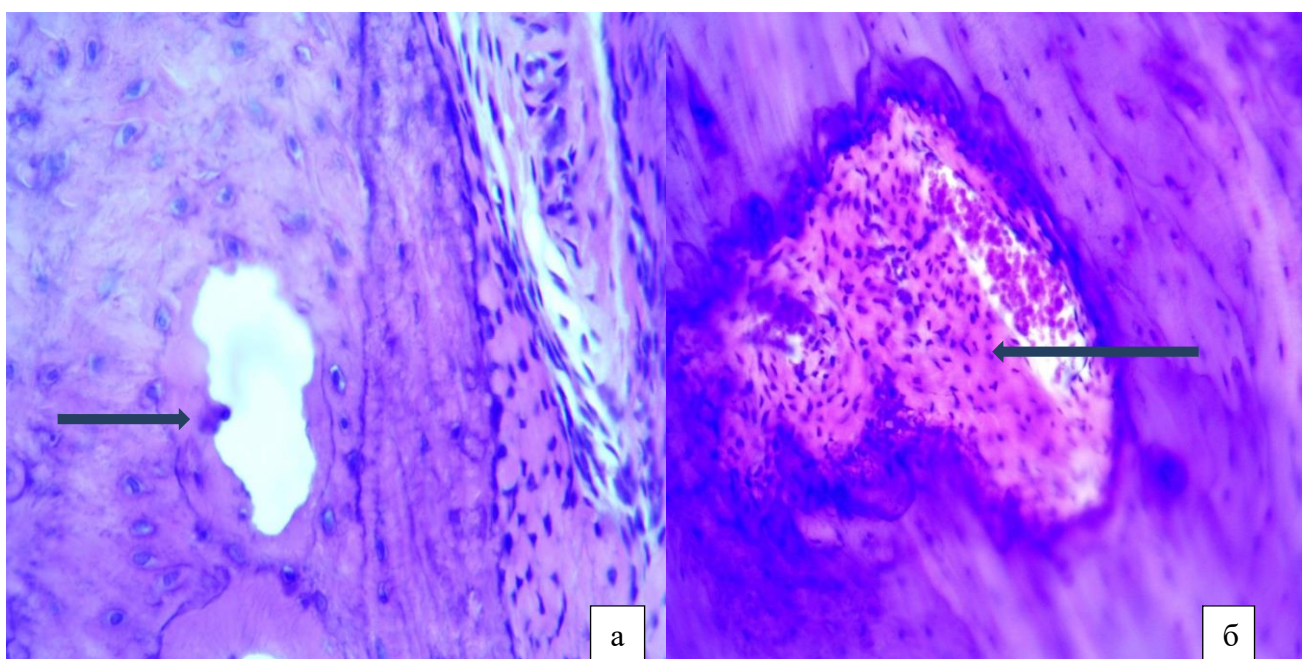


Рис. 9.8 Пародонт кроля при патології. Судинний канал з поїденою внутрішньою поверхнею і остеокластом (стрілка). Стінка складається лише з однієї кісткової пластинки. Зруйнований остеон, від якого залишився лише канал і тонка базофільна стінка. В просвіті визначаються розширені судини і розшарована сполучна тканина (стрілка). Гематоксилін і еозин x 250 (а), x 400 (б)

Місцями відбувається рерифікація міжальвеолярної перегородки, коли компактна кістка набуває схожість з губчастою. Кістка втрачає свою щільну структуру, стає спонгіозною.

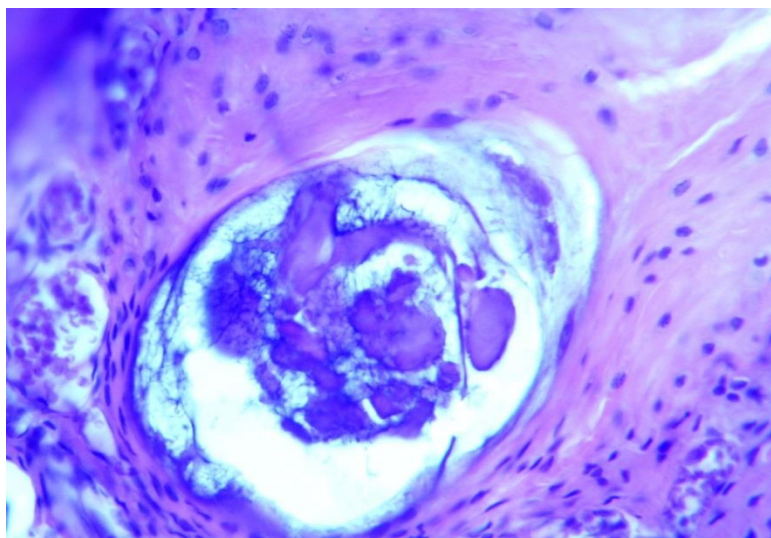


Рис. 9.9 Пародонт кроля при патології. Базофільні кальцифікати в просвіті розширеного гаверсового каналу, стінка практично відсутня. Гематоксилін і еозин x 400

Збережені остеони межують з уламковими остеонами, вставними пластинками, великими порожнинами, що з'явилися на місці поїдених і резорбційних гаверсових систем. Утворені порожнини великими полями сполучної тканини з численними і сильно кровонаповненими судинами, набряклою рідиною, клітинним детритом (рис. 9.10, 9.11).

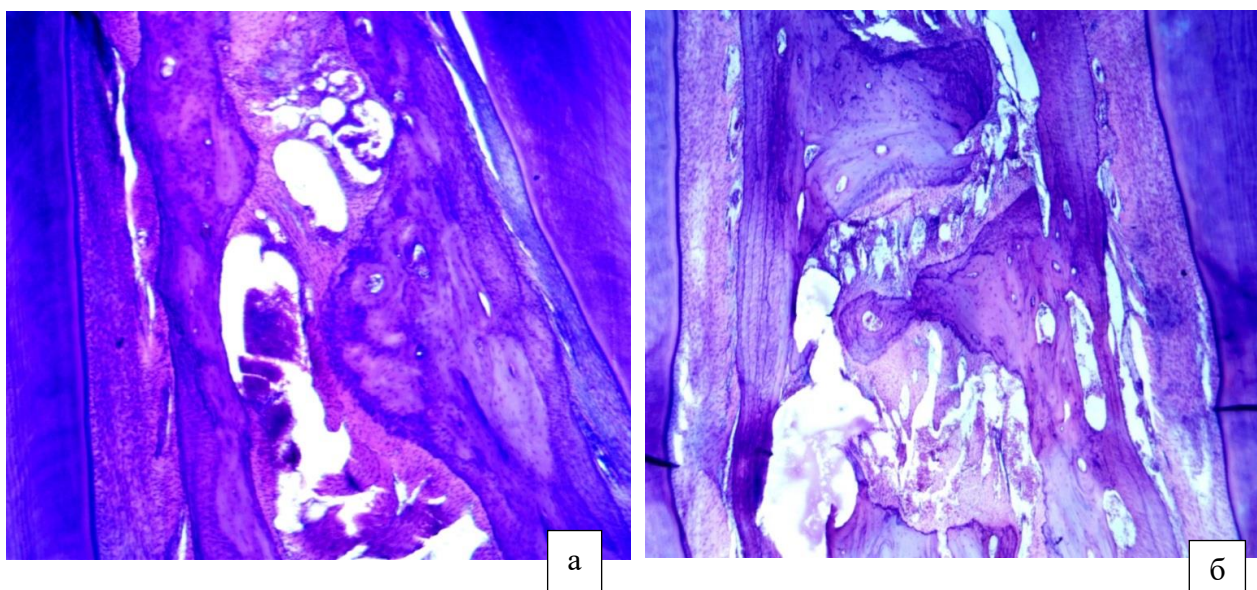


Рис. 9.10. Пародонт кроля при патології. Спонгізація альвеолярної кістки (а, б). Гематоксилін і еозин x 100

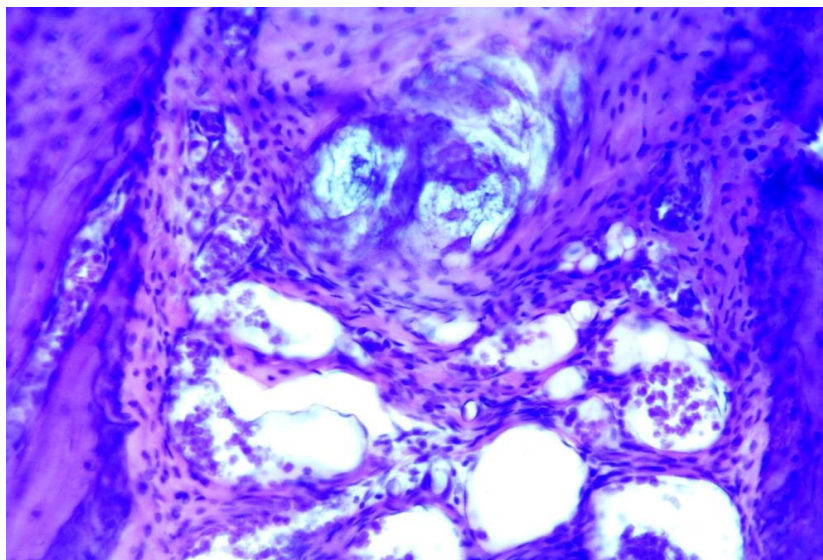


Рис. 9.11. Пародонт кроля при патології. Порожнину, що піддалася резорбції, заповнена сполучною тканиною з розширеними судинами і кальцифікатами. Гематоксилін і еозин x 250.

У власній пластинці ясен ділянки, що зберігають відносно нормальну структуру, межують з ділянками вираженого набряку, розпушення і навіть розплавлення тканинних структур (рис. 9.12). Подібні процеси не супроводжуються посиленням запальної інфільтрації, вона як і раніше незначна, а вогнища деструкції не відмежовані сполучнотканинними волокнами. Судини, як правило, кровонаповнені, часто видно стаз з відмежуванням плазми і дрібні, ймовірно жирові, вакуолі в просвіті (рис. 9.13). Таким чином, модель пародонтиту у кролів призводять до розвитку цілого комплексу запально-дистрофічних і деструктивних проявів, які пошкоджують як м'які, так і тверді тканини пародонту. Як відомо, глюкокортикоїди, в т.ч. гідрокортизон, α -ацетат, стимулюють остеокластогенез, посилюючи експресію RANK-ліганда і знижуючи експресію його антагоніста – рецептора остеопротегерину [4]. Тим самим, процес ремоделювання кісткової тканини втрачає гомеостатичний характер і стає патологічним. Тому передбачуваним об'єктом для гідрокортизону є кісткова тканина, а саме альвеолярна міжзубна кістка. Відбувається активна резорбція кісткової тканини і її сполучнотканинна організація. Цей процес протікає одночасно в крайових і в міжзубних альвеолярних кістках.

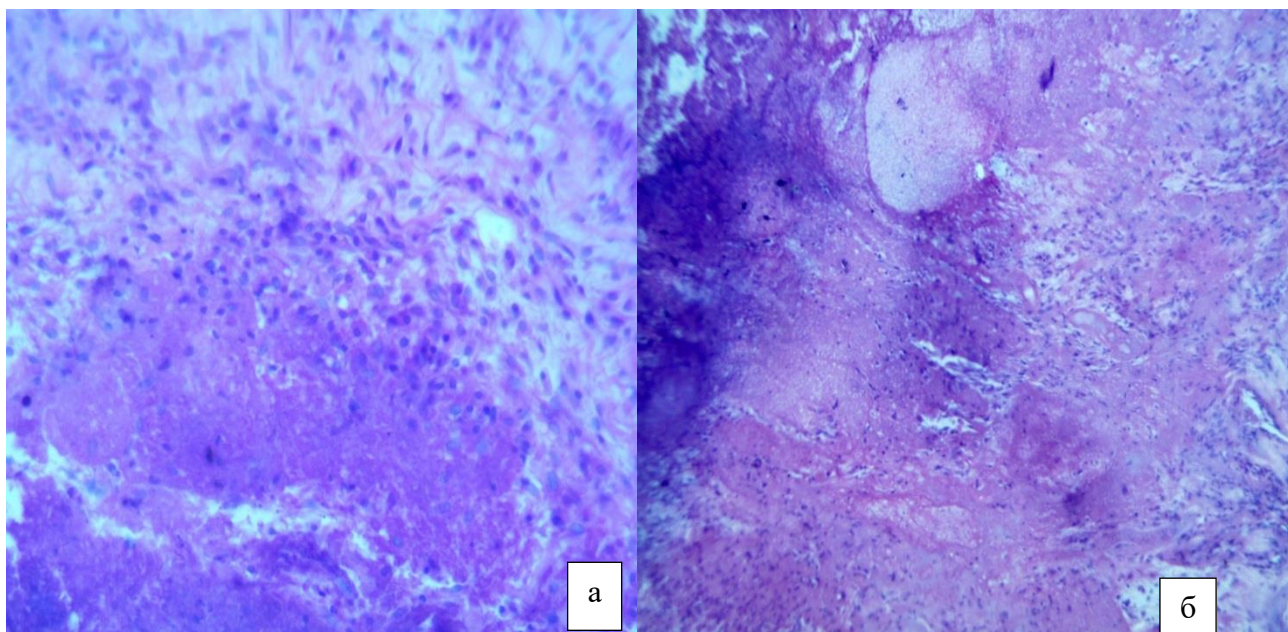


Рис. 9.12. Пародонт кроля при патології. Втрата структури і розплавлення тканин власної пластинки ясен (а, б). Гематоксилін і еозин х 400

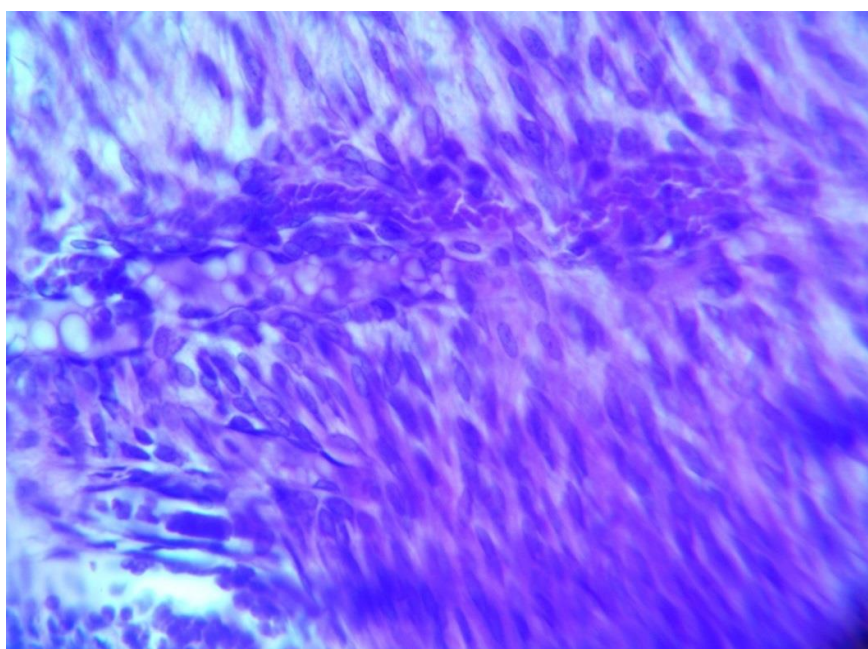


Рис. 9.13 Пародонт кроля при патології. Мікросудина з жировими вакуолями в просвіті. Гематоксилін і еозин х 400.

Підсумком є як би спонгізація пластинчастої кістки, тому що гаверсові канали розширюються, формуючи дрібні і більші порожнини. Відбувається зміна мікроархітектоніки остеонів і міжклітинної речовини. Морфологічно

патологічна резорбція проявляється також збільшенням кількості остеокластів, які виявляються в просвіті судинних каналів і в сполучній періостальній тканині. М'які тканини також порушені. Страждає періодонтальна зв'язка, волокна якої втрачають зв'язок з окістям альвеолярної кістки в області верхівки кореня, що з високою ймовірністю може призвести до втрати зуба через певний час. Таким чином, гістоморфологічне вивчення експериментального матеріалу при пародонтиті у кролів підтвердило запальний характер захворювань пародонта; одночасна присутність як в м'яких, так і в твердих тканинах пародонту, остеокластів, остеобластів, фібробластів та інших клітин сполучної тканини, що відповідають за резорбцію та ремоделювання неорганічного та органічного кісткового матриксу, є доказом того, що в тканинах пародонта постійно відбуваються процеси резорбції та ремоделювання.

9.2. Морфологія пародонтита у щурів (відтворення за методикою Євдокимова О. І. в модифікації Сукманського О. І. та Макаренко О.А., 2006 р.)

Гістологічному дослідженню піддавалися тканини пародонта і зуби як інтактних щурів, так тканини пародонта і зуби контрольної патології [7].

Шматочки щелепи з зубами і яснами фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, декальцинованому 5 % розчині азотної кислоти, періодично проводячи контроль ступеня декальцинації препарованої голкою. Потім зразки заливали в целлоїдин-парафін. З блоків виготовляли зрізи товщиною 6-7 мк, які фарбували гематоксиліном і еозином [3, 4]. Світлооптичні дослідження мікропрепаратів проведено з використанням мікроскопа СЕТІ, поєднаному з цифровою камерою SIGETA. Для перегляду, збереження і обробки мікрофотографій використовували програмне забезпечення для цифрових камер SIGETA.

Для об'єктивізації отриманих даних проводили морфометричні вимірювання. За допомогою програмного забезпечення TourView на

мікропрепаратах визначали відстань:

1. від точки біфуркації до гребеня міжкорневої перегородки;
2. від рівня емалево-цементної межі до верхнього краю ясенного сосочка – висота ясенного сосочка;
3. від рівня емалево-цементної межі до міжзубної перегородки;
4. від емалево-цементної межі до дна підстави пародонтальної кишені.

За величину деструкції приймалася відстань від емалево-цементної межі шийки зуба до дна основи пародонтальної кишені.

Отримані дані обробляли з використанням непараметричних методів статистики (Mann-Whitney U Test) [2]. У інтактних щурів коріння зубів занурені в альвеолярні відростки, до яких вони кріпляться за допомогою сполучнотканинних волокон пародонтальної зв'язки. Волокна останньої чітко орієнтовані і щільно зрощені з цементом кореня. Клітинні елементи періодонта нечисленні і представлені головним чином фібробластами, судини інтактні. У краю зубної альвеоли періодонт переходить в ясна. Поверхня самої альвеолярної кістки гладка, рівна. Вершина конусоподібної форми, від рівня емалево-цементної межі її відділяє відстань, яка у середньому дорівнює 340,28 мк (табл. 9.1) (рис. 9.14, 9.15). Міжкоренева перегородка має добре виражений гребінь, який знаходиться на відстані 97,27 мк від точки біфуркації (рис. 9.16). Вільні ясна розташовуються по периферії зуба в формі вузького трикутника, висота ясенного сосочка складає в середньому 378,51 мк. Слизова оболонка ясен покрита багат шаровим плоским зроговілим епітелієм. Базальний шар представлений одним рядом клітин з чіткими кордонами, ядра розташовуються на одному рівні, досить часто можна бачити клітини, що мітотично діляться. Полігональні клітини шиповидного шару розташовані в 7-8 рядів, клітини зернистого – в 3-4. Зернисті клітини в міру просування до поверхні злегка стають більш щільними, в їх цитоплазмі підвищується вміст гранул кератогіаліну. Роговий шар середньої товщини, досить компактний (рис. 9.17). Кордон між епітелієм і сполучною тканиною в цілому рівна, в деяких місцях сосочковий шар і

базальний шар утворюють хвилеподібні вирости. Ясневий край покритий зроговілим плоским епітелієм і щільно з'єднаний з окістям, як правило, на рівні емалево-цементної межі, тому глибина зубо-ясневої кишені практично збігається з висотою ясенного сосочка. Міжзубні сосочки покриті багатошаровим плоским епітелієм, який, як правило, не зроговіває і налічує всього 4-5 рядів клітин (рис.9.15).

Таблиця 9.1

Морфометричні показники тканин пародонта щурів

Показники/група	Інтактний контроль	Контрольна патологія
Висота ясенного сосочка (мк)	378,51 ± 33,4	421,26 ± 28,0
Відстань від точки біфуркації до гребеня міжкореневої перегородки, (мк)	97,27 ± 8,09	125,18 ± 10,59*
Відстань від емалево-цементної межі до міжзубної перегородки (мк)	340,28 ± 27,8	422,46 ± 25,64*
Число зубів з пародонтальними кишнями (%)	0	30,0
Величина деструкції (мк)	0	275,75

Примітка. * – відмінності вірогідні відносно інтактного контролю.

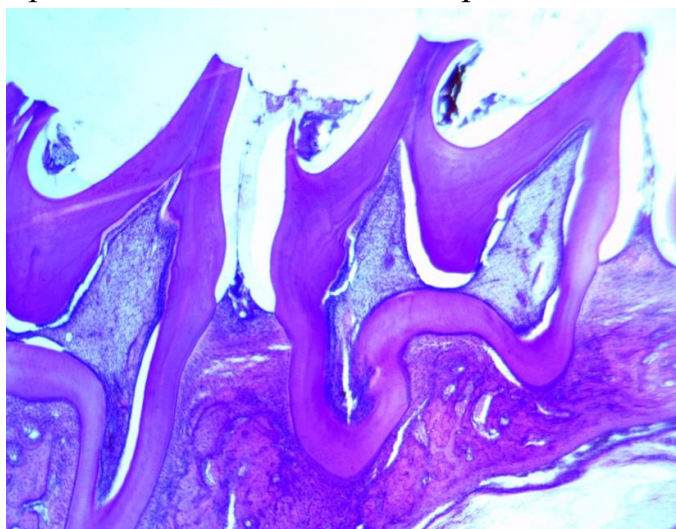


Рис. 9.14. Періодонт і зуби інтактного щура. Загальний вигляд зубів і тканин періодонта. Гематоксилін і еозин x 40

Судини мікроциркуляторного русла, що містяться в пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової ясна, помірно кровонаповнена або порожня. Клітинна інфільтрація власної пластинки невелика, представлена, в основному, лімфоцитами.

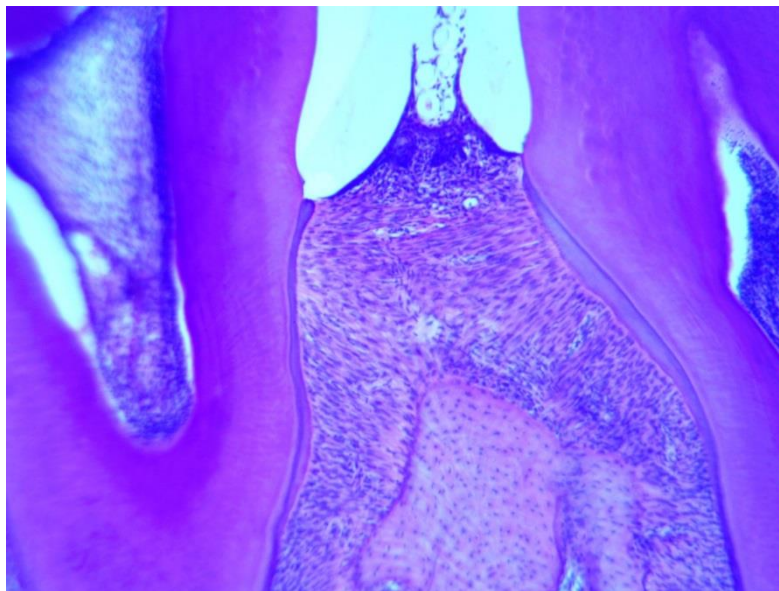


Рис. 9.15. Періодонт і зуб інтактного щура. Вузький епітеліальний пласт міжзубного сосочка щільно кріпиться до зуба на рівні емалево-цементної межі. Альвеолярна міжзубна кістка має рівні краї, конусоподібну вершину. Тканини періодонта спокійні. Гематоксилін і еозин x 100

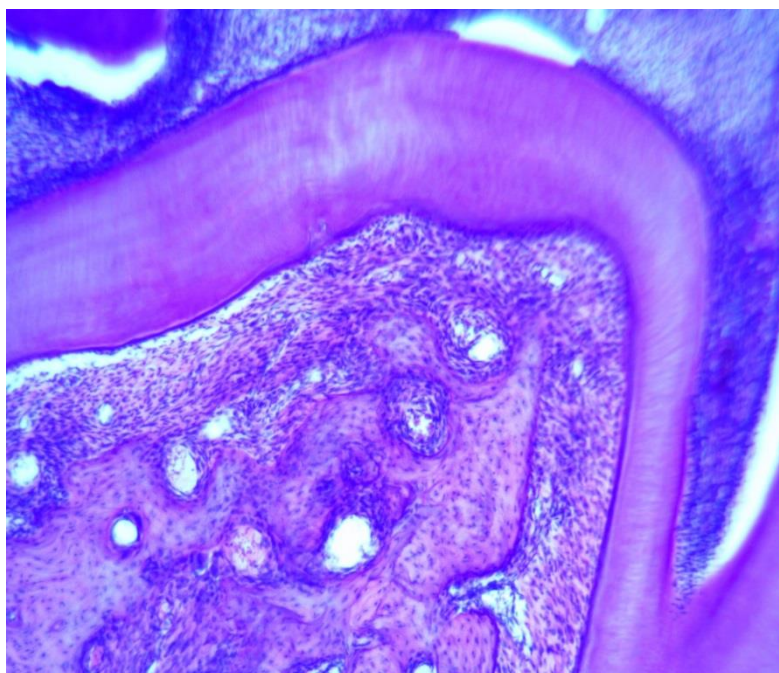


Рис. 9.16. Періодонт і зуб інтактного щура. Міжкоренева перегородка має конусоподібну форму, тканини періодонта спокійні. Гематоксилін і еозин x 100

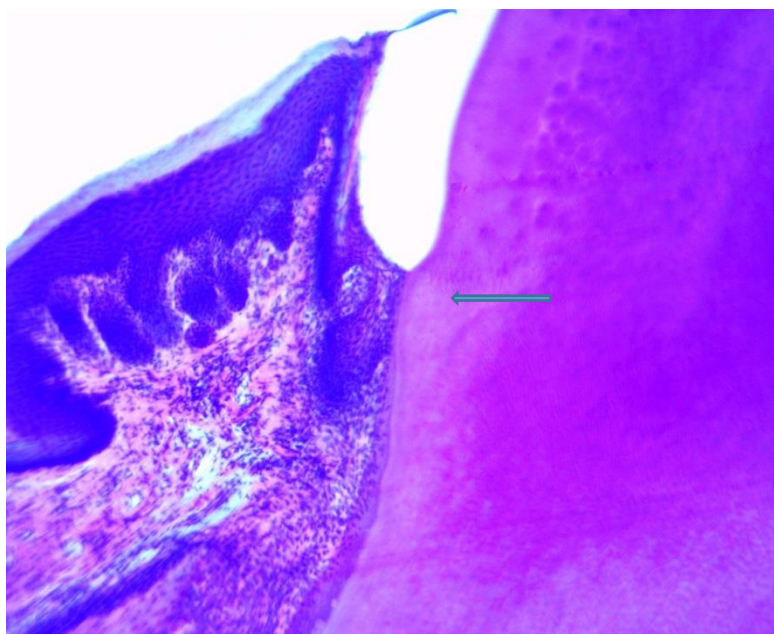


Рис. 9.17. Періодонт і зуб інтактного щура. Епітелій вільного ясна щільно кріпиться до зуба на рівні емалево-цементної межі (стрілка). Гематоксилін і еозин x 100

Поверхня зуба гладка, клітинний і безклітинний цемент добре виражені. Кістковий мозок, який міститься в осередках щелепної кістки, густоклітинний і поліморфний за своїм складом.

Морфологічні зміни, зазначені в пародонті старих щурів після їх утримування на пастоподібній дієті, спостерігалися в структурі як м'яких, так і твердих тканин, були неспецифічні і кілька варіювали за вираженістю у різних особин. Резорбція кістки (як гладка, так і лакунарна) відзначалася практично у всіх спостереженнях. У деяких випадках вона проявлялася в зазубреності бічних країв міжзубних перегородок, утворені поглиблення при цьому заміщувалися розростаючою сполучною тканиною з лімфоцитами, верхівка стоншувалася і перетворювалася в вузький кістковий тяж. Більш суттєві зміни кісткової тканини виражалися в розробці не тільки бічних частин, а й вершин міжзубних перегородок. В результаті вони втрачали конусоподібну форму, а періодонт нерівномірно розширювався (рис. 9.18). Результатом резорбції альвеолярного відростка є збільшення відстані від його вершини до рівня емалево-цементної межі майже на 30 % в порівнянні зі здоровими тваринами.

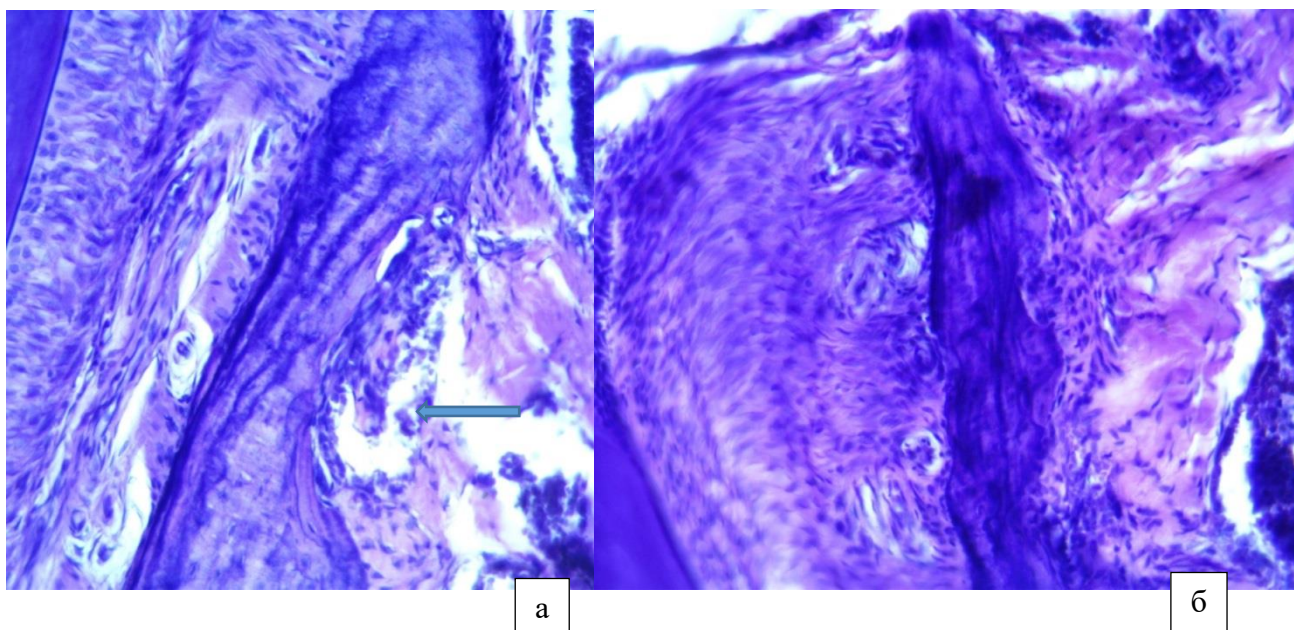


Рис. 9.18. Періодонт щурів, контрольна патологія. Гладка і лакуарна резорбція міжзубної кістки. Кістка стоншена, лакуни, що утворилися, заповнюються сполучною тканиною (стрілка) (а, б). Гематоксилін і еозин х 250

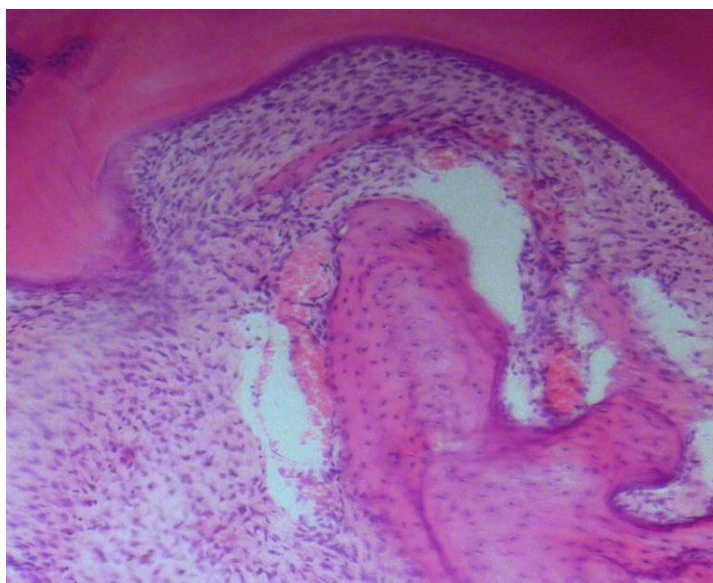


Рис.9.19. Періодонт щура, контрольна патологія. Резорбційна міжкоренева перегородка. Гематоксилін і еозин х 100

На 30 % у порівнянні з інтактним контролем збільшується відстань від точки біфуркації до міжкореневої перегородки, гребінь якої також піддається резорбції (рис. 9.19) (табл. 9.1).

Відзначено появу пародонтальних кишень, причина тому - розвиток дистрофічних процесів в пародонті і просування епітеліального прикріплення

зубів в напрямку верхівки. Лише в 60 % випадків рівень епітеліального прикріплення збігався з рівнем емалево-цементної межі (в контролі це зазначалося в 100 % спостережень), а в 40 % відзначалося руйнування кругової зв'язки, іноді – оголення анатомічного кореня зуба (в контролі такого взагалі не було виявлено) . В середньому за групою величина деструкції (відстань від емалево-цементного рівня до дна основи пародонтальної кишені) у тварин з оголеними коренями становила 275,75 мк. Якщо говорити про коливання цього показника, то вони досить помітні: були зуби з дуже неглибокими кишнями (рис.9.20, а); зуби, уздовж кореня яких епітелій помітно мігрував у бік апікуса (рис. 9.20, б) і зуби з глибокими і широкими кишнями, в порожнині яких визначалися лейкоцити (рис. 9.19).

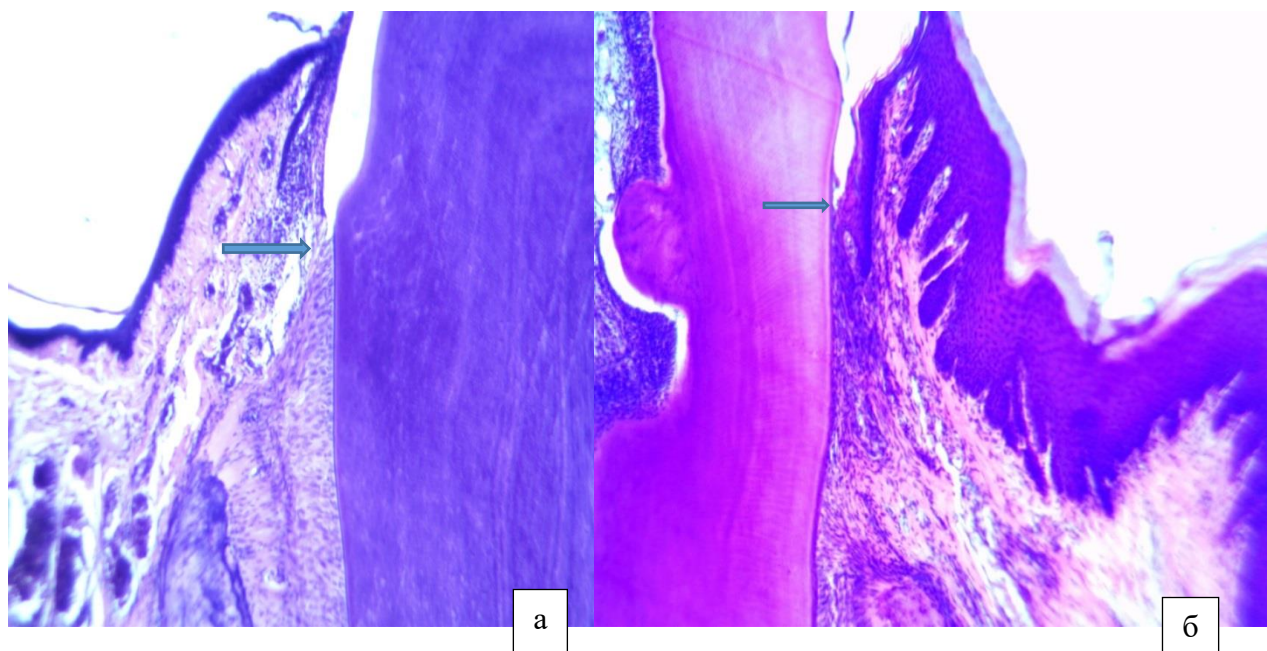


Рис. 9.20. Періодонт щура, контрольна патологія. Неглибока кишеня з порушенням емалево-цементного прикріплення (стрілка) (а). Більш глибока кишеню, епітеліальний пласт мігрує в напрямку апікуса кореня (стрілка) (б). Гематоксилін і еозин x 100

Що стосується міжзубних сосочків, то поряд з нормальними структурами спостерігалися сосочки з виразками на верхівках, внаслідок чого вони іноді набувають усіченої форми. У деяких випадках виявлялися і некротизований весь сосочок, епітелій при цьому підповзав під некротичні маси, відмежовуючи їх від сполучної тканини (рис.9.21).

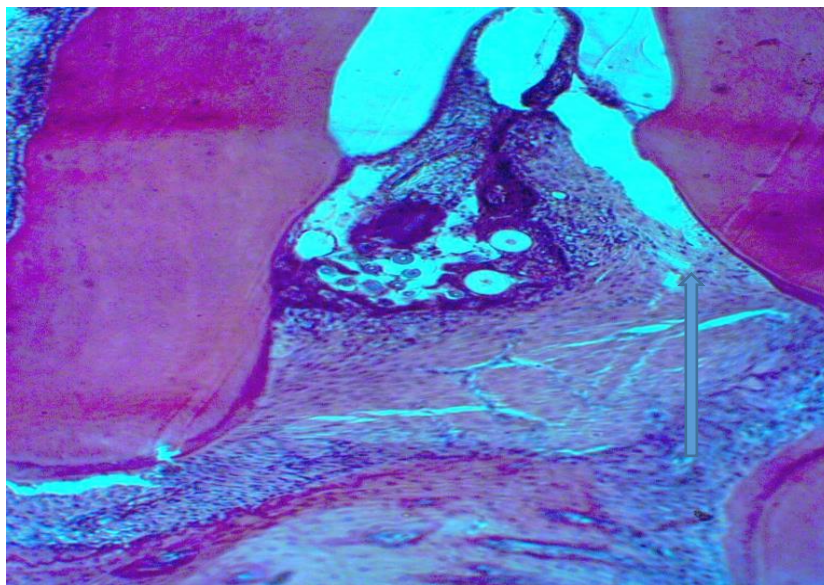


Рис. 9.21. Періодонт щура, контрольна патологія. Досить глибока кишеню з невеликим скупченням лейкоцитів (стрілка). Міжзубний сосочок некротизований, епітелій підповзає під некротичні маси. Усічена верхівка міжзубної кістки. Гематоксилін і еозин x100

Запальні явища були помірними і виявлялися в основному в клітинній інфільтрації субепітеліальної тканини ясен. У деяких мікропрепаратах на перший план виступала судинна реакція, коли просвіти ектазованих судин містили еритроцити зі значною домішкою лімфоцитів (рис.9.22).

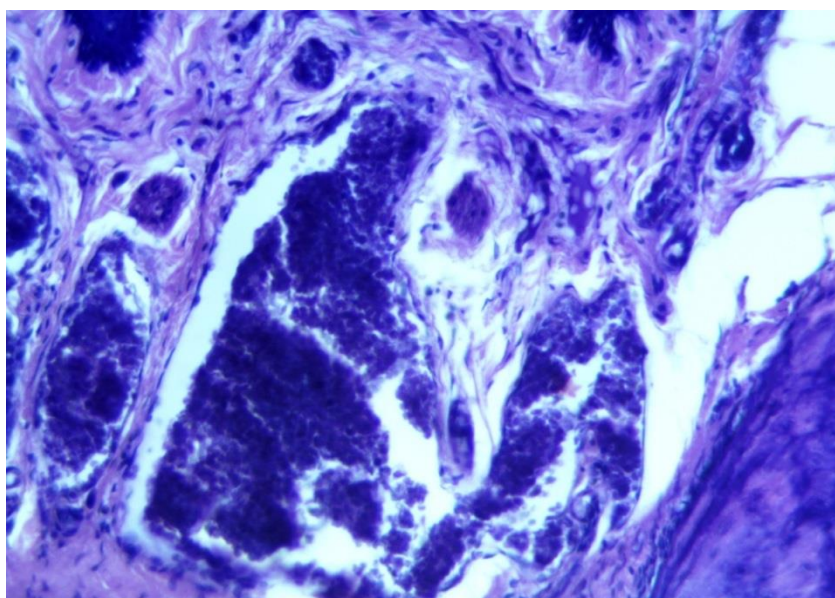


Рис. 9.22. Періодонт щурів, контрольна патологія. Ектазованні і кровонаповнені судини ясен. Гематоксилін і еозин x250

Таким чином, отримані морфометричні дані разом з гістологічною картиною переконливо свідчать про те, що тривале зниження жувальної функції, викликане споживанням гомогенізованої їжі, призводить до розвитку пародонтиту середнього ступеня тяжкості з генералізованим характером ураження. Розвивається цілий комплекс запально-дистрофічних і деструктивних проявів, які зачіпають як м'які, так і тверді тканини пародонту. Запальні явища при цьому виражені менше порівняно з дистрофічними змінами епітеліальних клітин ясна, просування епітеліального прикріплення уздовж кореня зуба в напрямку його верхівки і виникнення пародонтальних кишень, резорбція міжзубних і міжальвеолярних перегородок. В резорбції активно беруть участь остеокласти і остеобласти.

9.3. Морфологія гінгівіта у щурів (за методом Левицького А. П. та співавт., 2010 р.)

Гінгівіт – одне з поширених стоматологічних захворювань слизової ясен, уражає до 80 % дорослого населення і є однією з головних причин розвитку пародонтиту та втрати зубів. За формою проявлення розрізняють катаральну, гіпертрофічну, виразково-некротичну його форми. Найбільш вразливою при цьому захворюванні є слизова ясен, хоча нерідка локалізація елементів ураження і на інших ділянках рота. Морфологічно слизова ясен має таку ж будову, як і слизова інших відділів ротової порожнини. Різниця тільки в неоднаковому співвідношенні шарів, з яких складається слизова. Так, на ділянках твердого піднебіння, язика та ясен епітеліальний пласт, що вкриває поверхню слизової, більш потужний. На ділянках щоки і губи – більш виразна власна пластинка слизової. У ділянці дна, перехідних складок більш розвинутий підслизовий шар. Враховуючи наведене вище, а також більшу зручність взяття матеріалу на дослідження, виразно більший об'єм вилучених тканин, ми вважали припустимим на даній експериментальній моделі дослідити слизову оболонку присінку рота тварин у ділянці щоки та підборіддя, а не слизову ясен. Гінгівіт моделювали в два етапи: попереднім створенням дисбактеріозу в ротовій порожнині (внутрішньошлункове

введення лінкоміцину дозою 60 мг/кг протягом 5 днів) та подальшим локальним ураженням ясен та тканин присінку рота аплікаціями суспензії бджолої отрути (1 мг/кг в дозі 2 мл два рази на день протягом 3 днів) [4, 6]. Аплікації отрути наносили в двох областях присінку рота: між нижньою губою і різцями нижньої щелепи (підборіддя) та між молярами верхньої і нижньої щелеп і щокою праворуч. По закінченню періоду зразки слизової оболонки фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [3, 4]. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400 (Австрія), мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4 GHz за допомогою програми Nikon V1w 5. Як показала світлова мікроскопія, слизова оболонка у досліджених ділянках присінку рота інтактних щурів вкрита багат шаровим плоским зроговілим епітелієм. Структурна цілісність його не порушена, шари виражені чітко. Простежувалися всі переходи від життєздатних клітин до зроговілих. Виразність рогового шару у межах норми. Ширина епітеліального пласта помірно варіювала. На ділянці щоки по лінії змикання молярів ширина епітелію збільшена. Базальний шар чітко відокремлений від підлеглої власної пластинки слизової. Межа між епітелієм та прилеглою власною пластинкою нерівна. Епітеліальні вирости у межах норми. Насиченість власної пластинки слизової клітинними елементами, стан волокнистих структур звичайні. Підслизовий шар також без змін. Чіткої межі між власне пластинкою слизової та підслизовим шаром не спостерігали. Слинні залози, що розташовані на деяких ділянках підслизового шару у зоні щоки та підборіддя, помірно активні (рис. 9.23). У щурів групи контрольної патології на відміну від інтактних тварин, у структурі слизової оболонки досліджених ділянок присінку рота виявлені морфологічні ознаки, що характерні для гіпертрофічного гінгівіту. Простежено доволі протяжні вогнищеві розростання епітеліального пласта з акантозом (збільшення

чисельності рядів шипуватого шару з видовженням епітеліальних виростів, які проникають глибоко у власну пластинку) та гіперкератозом (збільшення рогового шару). Біля акантозних виростів у власній пластинці слизової доволі часто видно помірну клітинну інфільтрацію. Ознаки вогнищевої гіперплазії багатошарового епітелію з акантозом були більш виразні на ділянці щоки. У гіперплазованому епітелію у шипуватому шарі місцями помічені клітини, що знаходилися у стані паренхіматозного запалення: вони виразно збільшені у розмірі, просвітлені, ядро пікнотичне (рис. 9.24).

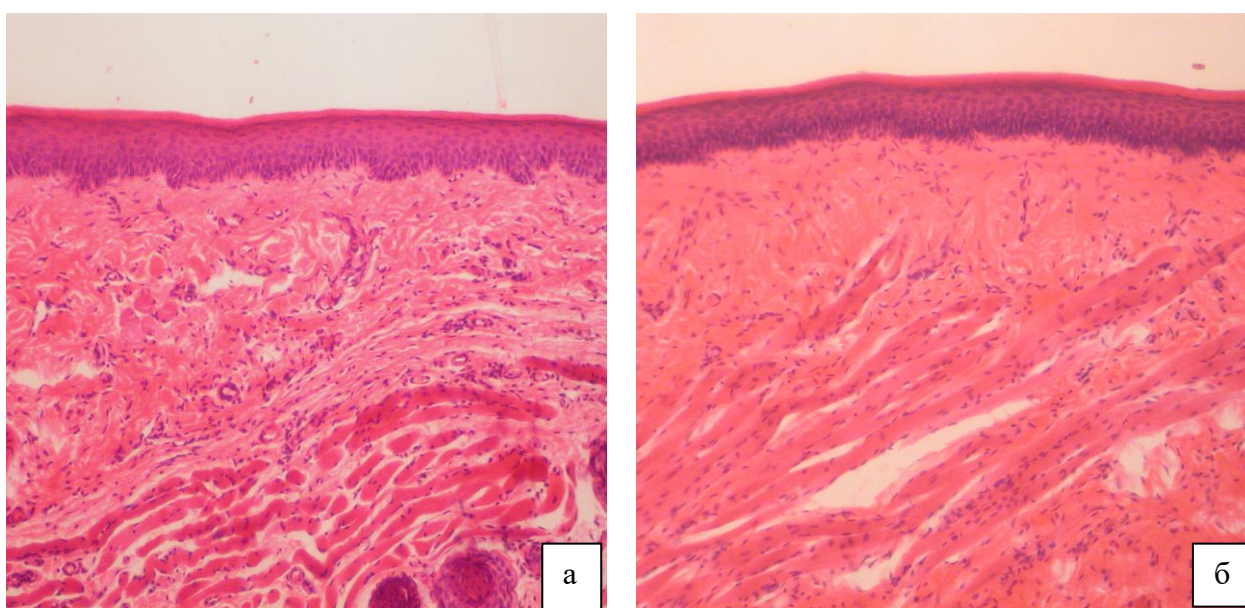


Рис. 9.23. Слизова оболонка присінку рота інтактних щурів: а – ділянка підборіддя, б – ділянка щоки. Нормальний стан. Гематоксилін-еозин. x100.

Окрім наведеного вище у деяких щурів у досліджених ділянках присінку рота виявлено гостре альтеративне запалення, очевидно, як наслідок припалювального впливу подразника: нечисленні ерозивні дефекти з повною або частковою деструкцією епітеліального пласта, виразною запальною реакцією у власній пластинці, некробіотичними змінами клітинних компонентів, мукоїдним набряком волокнистих компонентів строми, (рис. 9.25).

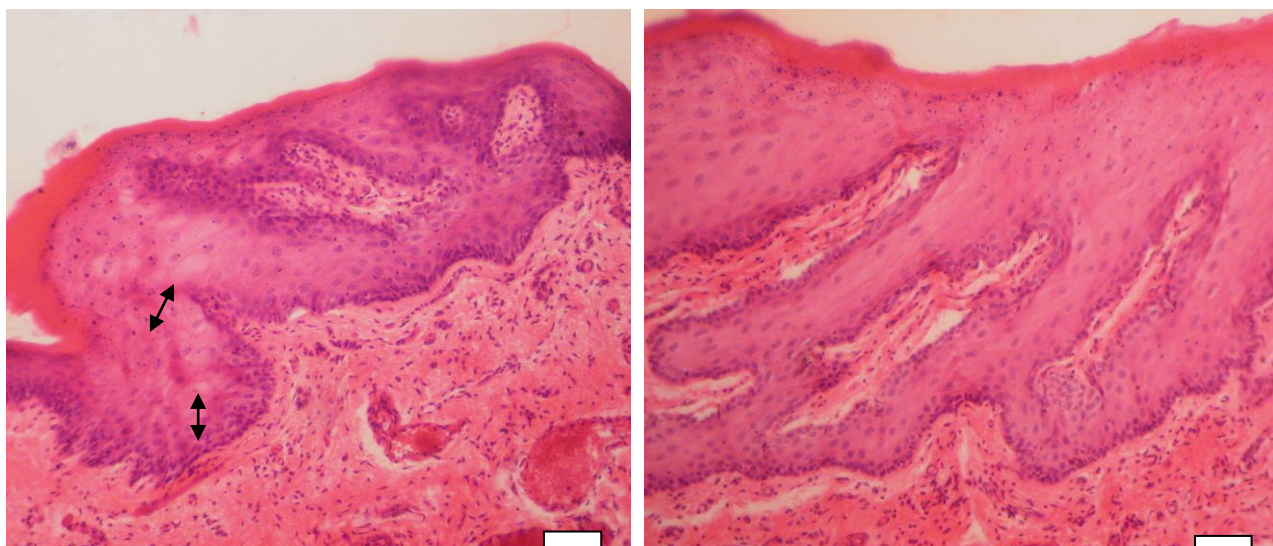


Рис. 9.24. Слизова оболочка присінку рота щурів після відтворення моделі гінгівіту: а – ділянка підборіддя, б – ділянка щоки. Гіперплазія епітеліального пласта, акантоз, гіперкератоз, паренхіматозне запалення клітин (стрілка). Гематоксилін-еозин x100.

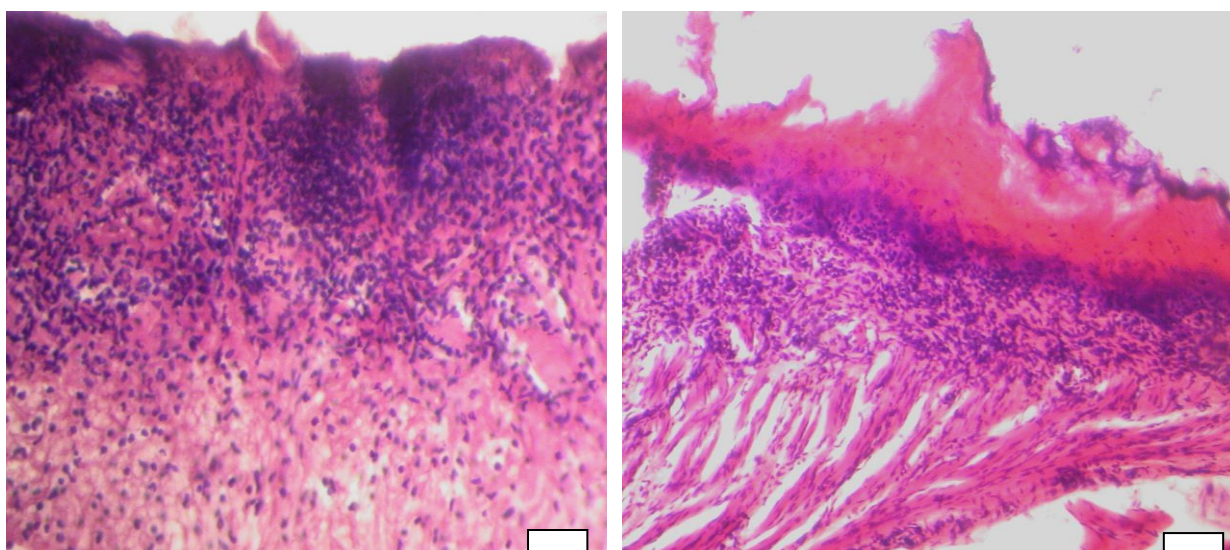


Рис. 9.25. Слизова оболочка присінку рота щурів після відтворення моделі гінгівіту: а – ділянка підборіддя, б – ділянка щоки. Деструкція епітелію, запальна клітинна реакція у власній пластинці слизової. Гематоксилін-еозин. x250.

Таким чином, на підставі отриманих даних можна зробити висновок про те, що локальне ураження ясен суспензією бджолиної отрути на тлі дисбактеріозу ротової порожнини викликає у більшості щурів (70-75 %) ознаки гіпертрофічного гінгівіту, морфологічна картина якого складається з

вогнищевої гіперплазії багат шарового епітелію з акантозом та гіперкератозом, дуже помірної запальної реакції у власній пластинці слизової. У ряді випадків мікроскопічна картина вогнищевої гіперплазії епітелію ускладнюється гострим альтеративним запаленням, при якому спостерігали різної виразності некротичні зміни епітелію з вогнищевою десквамацією його, запальну інфільтрацію, некробіотичні зміни у клітинних елементах та мукоїдний набряк волокнистих елементів строми [1]. Яскравої картини резорбції та ремоделювання тканин пародонта при гінгівіті не спостерігали. Його можна розглядати як початкову форму пародонтита.

9.4. Морфологія постекстракційного альвеоліта у щурів

Альвеоліт у щурів визивали за методом Черемісіної В.Ф. та співавторів. В результаті проведених експериментів, доведено, що щурам краще проводити наступний наркоз: спочатку виробляти невелику первинну премідикацію парами ефіру (якщо такий є в наявності) для притуплення активності. А потім проводити інфільтраційну анестезію в малих дозах (неопентал 0,4 на 1 кг ваги тварини). Ін'єкційна анестезія розраховується за вагою тварини. Таким чином тварина не відчуває больових відчуттів в повному обсязі (у результаті проведених експериментів спостерігалось, що введення щура в наркоз у тій кількості, яка потрібна, щоб він не помер від больового шоку при видаленні зуба, приводить до смерті тварини) [5]. Окрім оглядового забарвлення гематоксиліном і еозином зрізи фарбували пікрофуксином за методом Ван Гізона для виявлення колагенових волокон. Макроскопічно через добу після видалення зуба спостерігається легка припухлість навколишніх тканин, лунка заповнена кров'яним згустком, який займає майже весь її об'єм [4]. Через 7 діб при огляді ротової порожнини виявляються візуально видимі зміни альвеолярного відростку нижньої правої щелепи навколо лунки у вигляді її потовщення і гіперемії. Вміст лунки, як правило, вкритий сірим фіброзним нальотом, у деяких з лунок виділяється невелика кількість гною, що, цілком ймовірно, є результатом додаткового інфікування рани патогенною мікрофлорою віварію. При гістологічному

дослідженні альвеолярної лунки тварин через добу після видалення зубанижніх ознак дефекту не виявлено. Лунка заповнена кров'яним згустком, ексудатом і мікроскопічними уламками зруйнованих тканин (рис. 9.26).

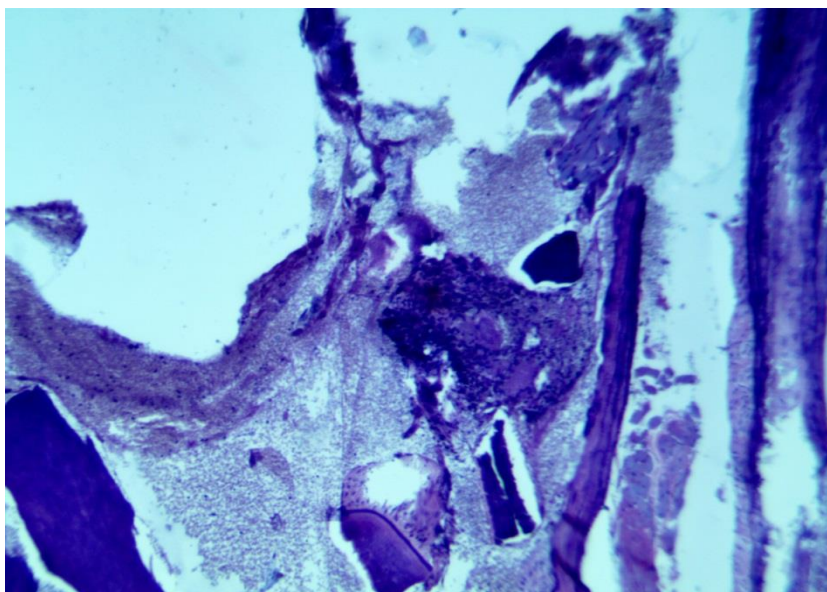


Рис. 9.26. Постекстракційна лунка щура, 1-а доба. Весь об'єм лунки заповнений кров'яним згустком і ексудатом. Гематоксилін і еозин x100

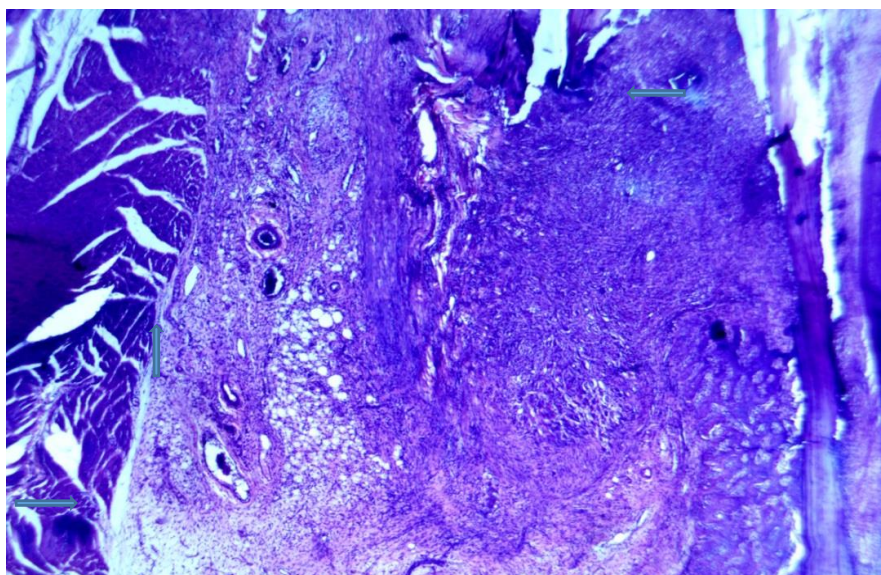


Рис. 9.27. Постекстракційна лунка щура, 7-а доба. Лунка зайнята грануляційною тканиною різного ступеня зрілості. Видно мікрогранулеми (стрілки). Гематоксилін і еозин x40

Через 7 діб організаційні процеси протікають досить активно, але мають різний ступінь вираженості, а також свої морфологічні особливості в

області дна, апікальної та пристінкової зонах. Весь об'єм постекстраціонної лунки зайнятий грануляційною тканиною, яка має різну ступінь зрілості в різних ділянках. Всюди ще видно капсульовані мікрогранулеми, в яких відбувається резорбція уламків видаленого зуба і частинок пошкоджених тканин (рис. 9.27). Ближче до апікальної частини лунки її вміст втрачає волокнистий характер. Можна бачити ділянки, практично позбавлені волокон, але з великою кількістю клітин як фібробластичного ряду, так і мононуклеарів. Утворення волокнистих структур тільки починається, молоді фіброласти веретеноподібної форми вже присутні в достатній кількості. Видно, як тонкі молоді судини відокремлюються від вже існуючих і формують тонку сітку (рис. 9.28).

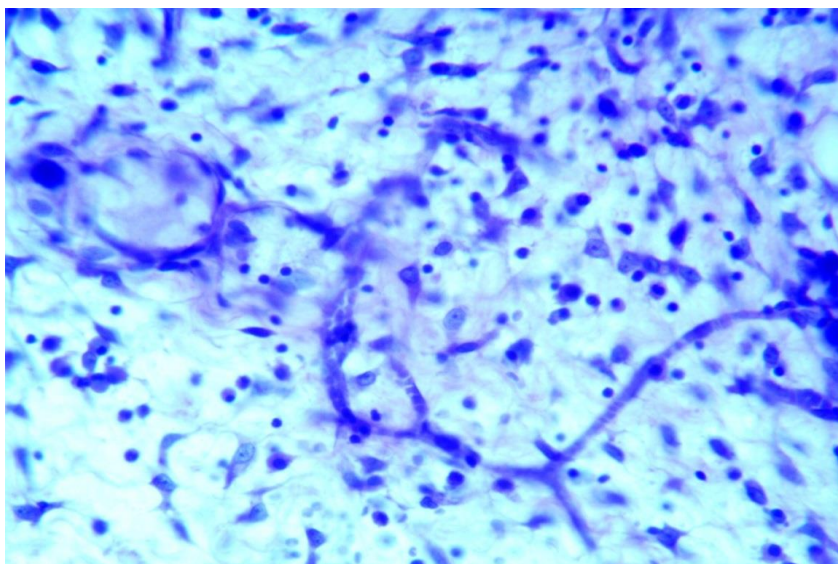


Рис. 9.28. Постекстракційна лунка щура, 7-а доба. Ділянка з численними клітинами, багато фіброblastів і мононуклеарів. Формується капілярна сітка. Гематоксилін і еозин x 400

Апікальна третина лунки заповнена густим поліморфноклітинним інфільтратом без будь-яких ознак організації. Гнійні маси, некротизовані залишки тканин і поодинокі фіброласти – це те, чим заповнена апікальна частина постекстракційних лунок. Немає ознак початку ремоделювання і пенетрації новоутвореними судинами (рис. 9.29).

Ці запальні і організаційні процеси відбуваються паралельно і в тісному зв'язку з процесом остеогенеза. Для початку слід зазначити, що

результатом екстракції зуба і наступних запальних процесів є часткова резорбція альвеолярної міжзубної стінки. Кісткові трабекули стають тонкі, переривчасті (рис. 9.30).

Це особливо помітно, якщо порівняти губчасту кісткову тканину внутрішньої поверхні постекстракційних альвеол з аналогічною тканиною сусіднього здорового зуба (рис. 9.31).

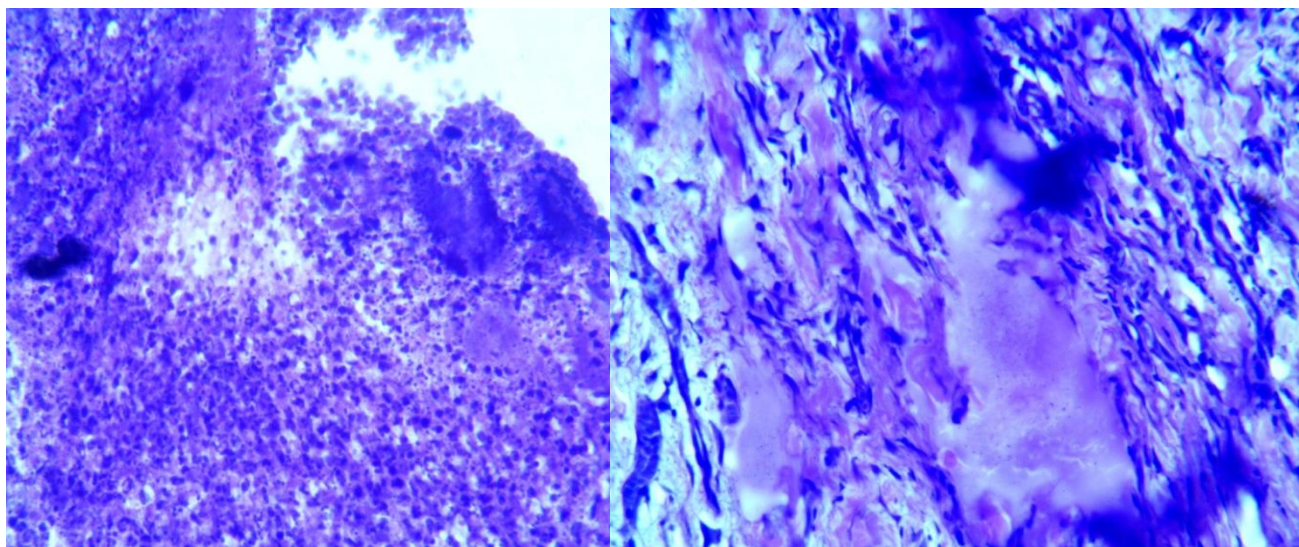


Рис. 9.29. Постекстракційна лунка щура, 7-а доба. Густий поліморфноклітинний інфільтрат в апікальній частині лунки (а) $\times 100$. Некротизовані залишки тканин в апікальній частині лунки (б) $\times 400$. Гематоксилін і еозин

В розширених осередках спостерігається редукція гемопоезу: замість активної кістково-мозкової тканини вони містять тканину сполучну. І навіть компактна кістка місцями піддається резорбції, свідченням чого є розширені гаверсові системи і множинні дрібні порожнини (рис. 9.32). Але поряд з цими деструктивними процесами, по внутрішній поверхні лунки активно відбувається процес утворення нової кісткової тканини. Це відбувається за рахунок мігруючих і проліферуючих остеобластів, які починають формувати нові остеони навколо новоутворених судин. Пальцеподібними виступами, що набувають обрису трабекул, незріла кісткова тканина починає просуватися вздовж судин. Як правило, це відбувається поки тільки у щітковій поверхні альвеолярної стінки. У міжтрабекулярних просторах ще немає

гемопоестичних клітин, там тільки врастаюча пухка сполучна тканина і остеобласти (рис. 9.33).

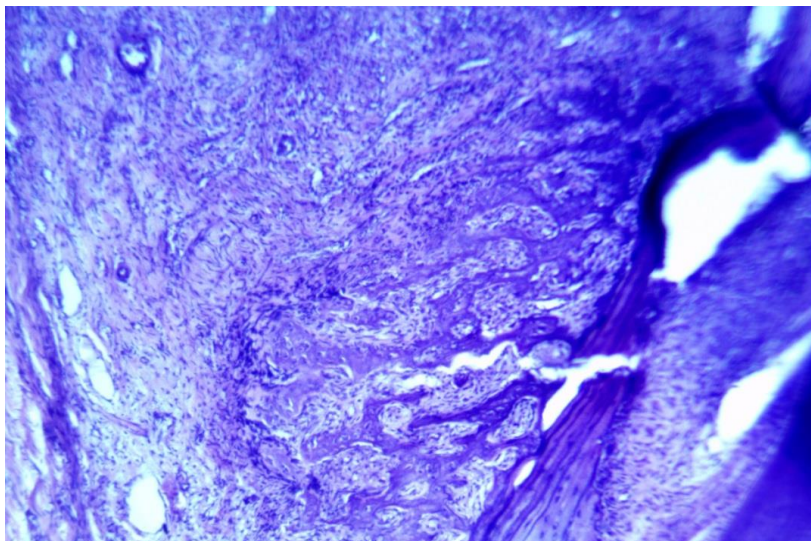


Рис. 9.30. Постекстракційна лунка щура, 7-а доба. Тонкі резорбційні трабекули губчастої кістки (окружність). Гематоксилін і еозин x 100

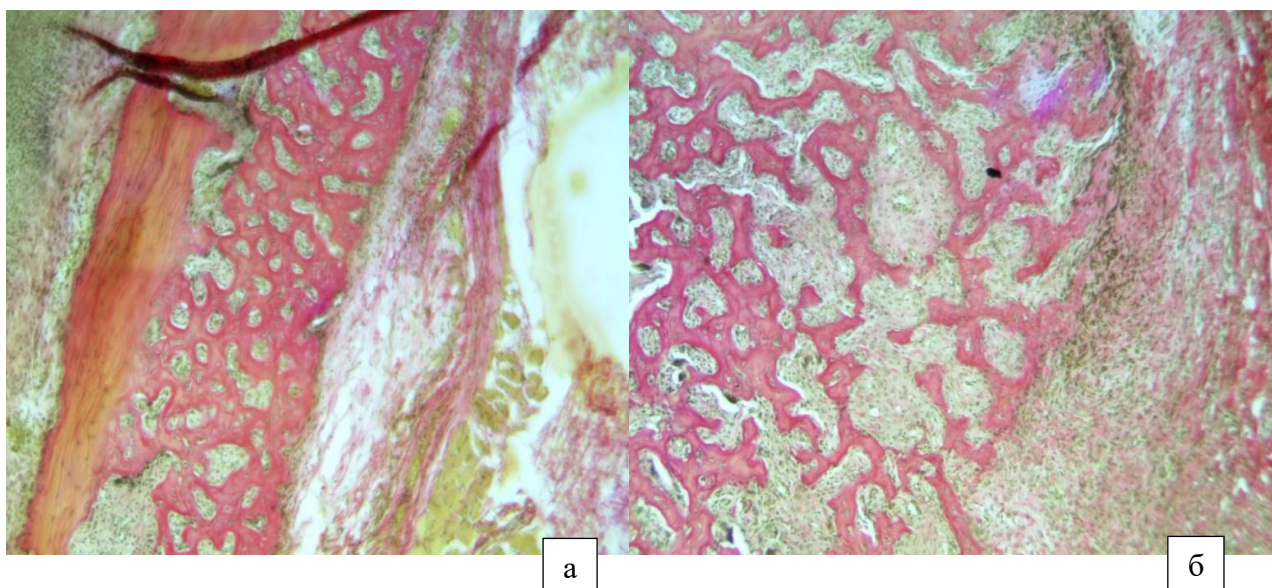


Рис.9.31. Постекстракційна лунка щура, 7-а доба. Губчаста частина внутрішньої поверхні альвеоли здорового зуба (а) x100 і аналогічна кістка постекстракційної лунки (б) x250. Пікрофуксин за Ван Гізоном

Епітелізація дефекту відбувається вторинним натягом. Вже видно, як в деякому віддаленні від краю лунки починається накопичення клітинної епітеліальної маси, яка утворює валики. Від них в сторону дефекту тягнуться

тонкі язику епітелію, які на даному етапі ще не можуть закрити рану, через незрілість грануляційної тканини в апікальній частині лунки (рис. 9.34).

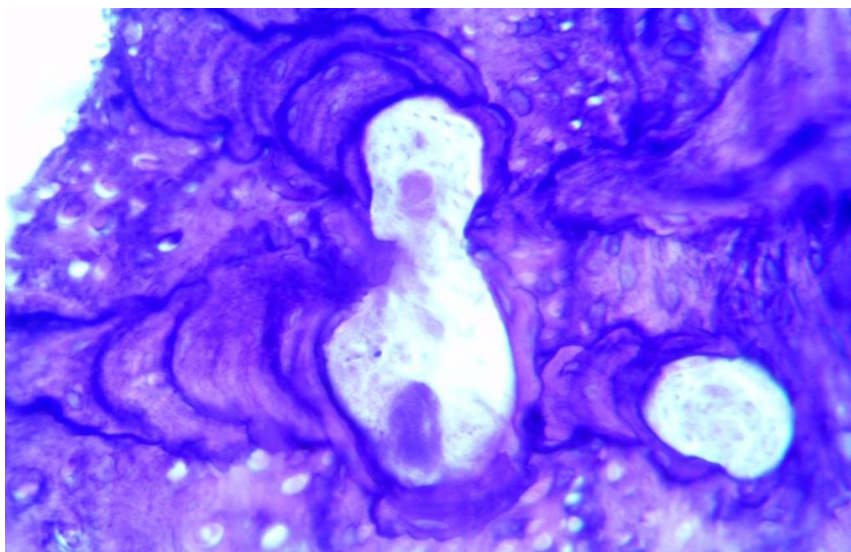


Рис. 9.32. Постекстракційна лунка щура, 7-а доба. Гігантські судинні порожнини компакної кістки. Гематоксилін і еозин x 400

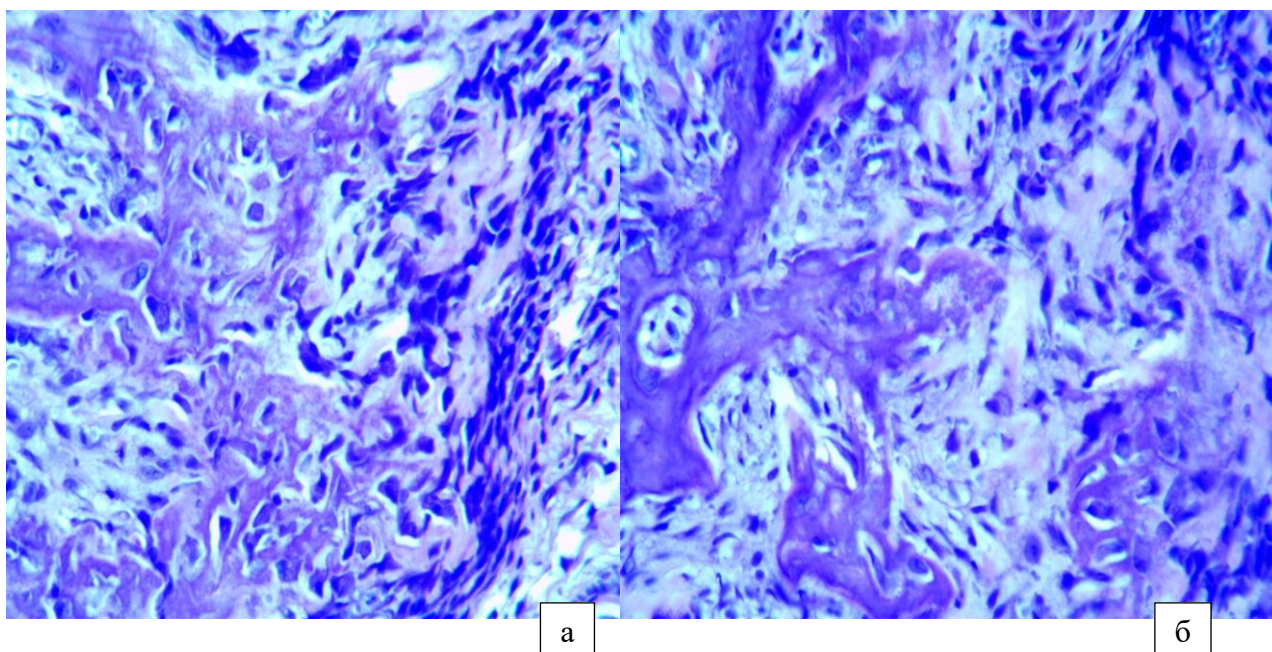


Рис. 9.33. Постекстракційна лунка щура, 7-а доба. Активне формування незрілої кісткової тканини, велика кількість остеобластів в міжбалковому просторі та навколо. Гематоксилін і еозин x250 (а), x 400 (б)

Таким чином, описана клінічна і мікроскопічна картина свідчить про те, що в результаті хірургічної вітальної екстирпації зуба і приєднаної інфекції розвивається типовий гнійний альвеоліт.

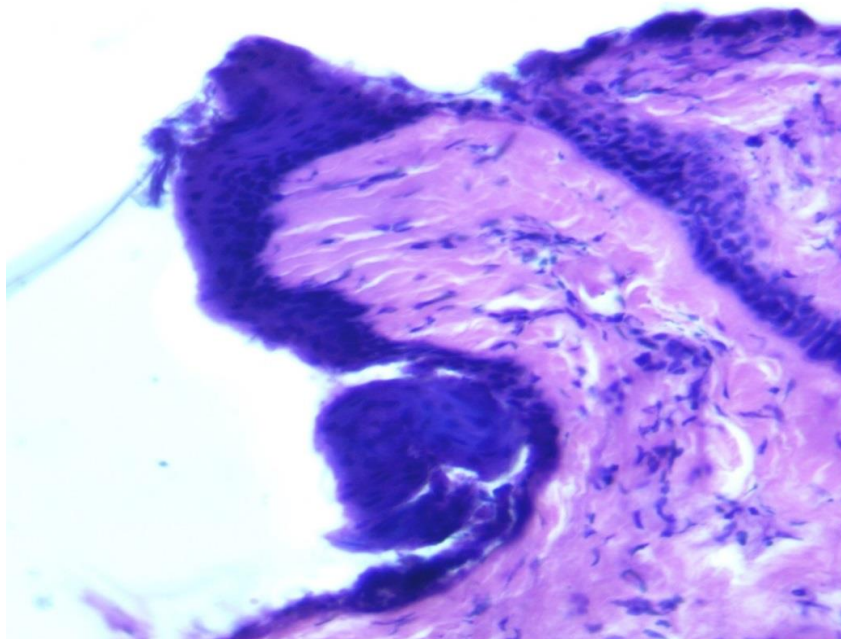


Рис. 9.34. Постекстракційна лунка щура, 7-а доба. Епітеліальні валики (стрілки), тонкий епітеліальний пласт, що наповзає на дефект (тонка стрілка). Гематоксилін і еозин x250

Інфекція, швидше за все, гальмує репаративні процеси, але загоєння лунки відбувається за класичним сценарієм. На 1-у добу лунка зайнята кров'яним згустком, що є першим, дуже важливим і необхідним кроком для подальшого формування грануляційної тканини. До 7-ї доби альвеола поступово заповнюється грануляційною тканиною в напрямку від дна до апікальної поверхні. В області дна грануляції дуже зрілі, в середній і верхній третині ще присутні ознаки уповільненого запалення з наявністю вогнищ клітинної інфільтрації в апікальній частині дефекту. В таких осередках переважали поліморфноклітинні лейкоцити і макрофаги. Скрізь спостерігається висока активність фібробластів, що синтезують волокна. Проглядається безліч ділянок осередкового остеогенеза, особливо на кордоні з альвеолярною стінкою. Сформована незріла кісткова тканина поступово набуває рис, що характерні для зрілої губчастої кістки, якою в підсумку і повинна бути заповнена альвеолярна лунка.

Висновки до Розділу 9:

1. Проведене гістоморфологічне вивчення експериментального матеріалу, взятого у тварин з пародонтитом, гінгівітом та альвеолітом показало виражений запальний характер захворювань пародонта та активну участь остеокластів, остеобластів та фібробластів в механізмах резорбції та ремоделювання м'яких та кісткових тканин пародонта.

Список використаних джерел у Розділі 9:

1. Гусев Е. В., Черешнев В. А. Системное воспаление: теоретические и методологические подходы к описанию модели общепатологического процесса. Часть 1. Общая характеристика процесса. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2012. № 4. С. 3–14.

2. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико–биологических исследованиях с использованием Excel. К. : МОРИОН, 2000. 320 с.

3. Морфометрическое исследование нарушений костной ткани под воздействием глюкокортикостероидов / С. Б. Павлов и др. *Інтегративні механізми патологічних процесів : від експериментальних досліджень до клінічної практики* : матеріали VII Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів та наук.-практ. конф. Полтава, 2018. С. 67–69.

4. Саркисов Д. С., Перов Ю. Л. Микроскопическая техника: руководство для врачей и лаборантов. М.: Медицина. 1996. 542 с.

5. Спосіб моделювання альвеоліту у лабораторних тварин (щурів) / В. Ф. Черемісіна, М. І. Гармаш, А. І. Березнякова // пат. 129440 Україна: МПК G09B 23/28. № 201805815; заявл. 24.05.2018; опубл. 25.10.2018, Бюл. № 20. 3 с.

6. Спосіб моделювання гінгівіту / А. П. Левицький, І. О. Селиванська, О. А. Макаренко, Л. М. Розсаханова, І. В. Ходаков // пат. 31011 Україна: МПК А61Р 31/00, А61К 35/56, А61С 7/00. № 200711608; заявл. 22.10.2007; опубл. 25.03.2008, Бюл. № 6. 3 с.

7. Сукманский О. И., Макаренко О. А. Экспериментальная модель

генерализованного пародонтита. *Вісник стоматології*. 2006. № 2. С. 2–3.

8. Alpdogan Kantaci, Natice Hasturk, Van Dyke T. E. Animal models for periodontal regeneration and periimplant responses. *Periodontol.* 2000. Vol. 1. P. 66–82.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

На першому етапі нашої роботи ми вивчали реакцію СТ в різних органах, в тому числі, в пародонті, на гостре локальне (скипидарне) запалення шкіри спини шурів. Ми намагалися з'ясувати, що обмежений запальний процес СТ шкіри має не тільки локальний, але й генералізований характер, тим більше, що в останні роки теорія запалення зазнала значних змін. Традиційні уявлення про місцевий характер цього типового патологічного процесу доповнені теорією системного запалення [9]. Але вона поділяється далеко не всіма авторами та недостатньо експериментально обґрунтована, що і склало суть цього дослідження. Проведені морфологічні дослідження свідчать, що через 6 годин після підшкірної ін'єкції скипидару в області запалення в глибоких шарах дерми і в підшкірній клітковині спостерігалися вогнища деструкції сполучної тканини з вираженим набряком. Перифокально визначалася виражена лейкоцитарна інфільтрація, дифузна міомаляція, інтерстиціальний набряк. Всі деривати шкіри збережені. Навколо структур дерми спостерігали дифузне гнійне запалення. На другу добу межі вогнища деструкції стали більш виразними. У центрі його посилювався набряк, а з зовнішнього боку від сформованого лейкоцитарного валу визначали досить широкий шар грануляційної тканини з новоутвореними капілярами, фібробластами і поперечно-посмугована м'язова тканина з вогнищевим запаленням без міомаляції (без некрозу). Осередок деструкції чітко спостерігався в підшкірній жировій клітковині. У дермі були мінімальні явища запалення – інфільтрація окремими лімфо-гістіоцитарними елементами, слабо виражений набряк. У периферичній крові після введення скипидару розвивається нейтрофільний лейкоцитоз (кількість нейтрофілів в крові інтактних тварин - $2,57 \pm 0,20 \times 10^3$ /мкл), а через 6 годин після введення

скипидару їх кількість збільшувалася до $4,65 \pm 0,54 \times 10^3/\text{л}$ ($p \leq 0,05$). Крім того, щодо тварин з патологією достовірно знижувався вміст лімфоцитів (з $7,20 \pm 0,35 \times 10^3/\text{л}$ до $5,78 \pm 0,52 \times 10^3/\text{л}$). Крім реакції клітин білої крові через 6 годин після введення скипидару відзначалося підвищення кількості тромбоцитів (з $638,00 \pm 22,96 \times 10^3/\text{л}$ до $855,69 \pm 53,10 \times 10^3/\text{мкл}$) і тромбокриту (з $0,43 \pm 0,01$ % до $0,56 \pm 0,03$ %). Це, мабуть, є частиною неспецифічної стресорної реакції на вплив флогогену. До другої доби вміст лімфоцитів в периферичній крові продовжував перебувати на зниженому щодо контролю рівні ($5,99 \pm 0,43 \times 10^3/\text{л}$). Решта показників білої крові і тромбоцитів поверталися до рівня контролю. Нами вивчені: наднирники, тимус, кишечник, слизова альвеолярного відростку пародонта, шкіра спини в місці введення скипидару. Показниками морфофункціональної активності СТ слугували фібробласти, макрофаги, лейкоцити (CD 45+), тучні клітини, в яких розраховували коефіцієнт дегрануляції, індекс гранулолізу та оптичну щільність. Аналіз результатів проведеного дослідження показав, що фазові зміни СТ щурів у відповідь на місцеве запалення мають як локальний, так і генералізований характер і тканина альвеолярного відростку нижньої щелепи щурів також активно бере участь у запальному процесі, як і СТ інших органів. Диференційна діагностика захворювань пародонта – одна із найбільш складних проблем в стоматологічній практиці, що обумовлено схожістю клінічних проявів різних нозологічних форм, часто не до кінця з'ясованим етіопатогенезом. Нами був проведений експеримент з виявлення імуноморфологічних та імуногістохімічних особливостей пародонтита та гінгівіта. Імуногістохімічно в стромі зустрічаються як CD3+T, так і CD20+B-лімфоцити та переважання CD8+T-клітин. В сполучній тканині, в лімфоцитарних інфільтратах з вираженою перевагою в порівнянні із сегментоядерними лейкоцитами, представлені лімфоцити. Кількість гранулоцитів приблизно в 8-10 разів менше порівняно з лімфоцитами. Цікава особливість виявлена в динаміці кількісних показників лімфоцитів в залежності від захворювання: максимальна кількість CD4+ТН-лімфоцитів

представлено при гінгівіті ($90,2 \pm 3,31$; $39,9 \pm 3,25$), а при пародонтиті їх кількість скорочується майже вдвічі ($50,3 \pm 2,11$; $15,9 \pm 2,15$). Стосовно CD8+Т-лімфоцитів, їх максимальна кількість відмічається також при гінгівіті, а при пародонтиті вона збільшується в 5 разів. Співвідношення CD4+ТН-лімфоцитів та CD8+ТC-лімфоцитами (ТН/ТC) ми одержали в наступному вигляді: при гінгівіті – 2,5/1 ($20,0 \pm 2,71$; $8,8 \pm 1,89$ %), при пародонтиті – 1/3 ($110,0 \pm 3,11$; $34,9 \pm 2,68$ %). Це свідчить про те, що при гінгівіті Т-хелпери переважають цитотоксичними лімфоцитами, а при пародонтиті, навпаки, різко переважають Т-цитотоксичні лімфоцити, тобто при більш вираженому клінічно захворюванні знижується хелперна функція Т-лімфоцитів і підвищується цитотоксичний ефект. Цікаву картину представляють кількісні зміни лімфоцитів. Зокрема, CD4+ ТН-лімфоцитів мало, і вони складають $30,0 \pm 0,71$ ($11,0 \pm 1,89$ %). Стосовно CD8+ Т-лімфоцитів, їх кількість в 5 разів вище і дорівнює $150,0 \pm 2,21$ ($55,0 \pm 3,11$ %). Таке співвідношення CD4+ ТН-лімфоцитів з CD8+ ТC-лімфоцитами (ТН/ТC) вказує на те, що при гінгівіті знижується хелперна функція Т-лімфоцитів та підвищується цитотоксичний ефект. Кількість CD20+ В-лімфоцитів при пародонтиті набагато менша порівняно з Т-лімфоцитами та складає $11,5 \pm 0,92$ ($4,2 \pm 0,61$ %). Це вказує на те, що значення CD20+ В-лімфоцитів в патогенезі захворювань другорядне та їх кількісні зміни, в основному, повинні бути обумовлені не стільки тяжкістю пошкодження, скільки ступенем інфікування та особливостями мікробного агенту. Більш того, одержані результати свідчать ще про те, що в патогенезі пародонтиту ключовими є Т-лімфоцити та співвідношення між CD4+ ТН та CD8+ТC субпопуляціями. При гінгівіті, в залежності від стадії в морфогенезі, на передній план виступають васкулярні чи виразково-некротичні та запальні зміни, тобто явища периваскуліта.

Особливістю гінгівіту є те, що у лімфоцитів в клітинному інфільтраті представлені тільки CD3+, CD4+ та CD8+ Т-лімфоцитами. Стосовно В-лімфоцитів, вони майже не зустрічаються. З такою ж частотою зустрічаються макрофаги. Таким чином, при гінгівіті запальний інфільтрат має виражений

Т-лімфоцитарний характер. Лімфоцити представлені великою кількістю у всіх трьох популяціях: CD3+, CD4+ та CD8+. Окрім імуніцитів, у великій кількості зустрічалися і нейтрофільні лейкоцити. Спираючись на вищезазначене, на основі гістологічного та імуногістохімічного вивчення тканин пародонту при гінгівіті можна вважати, що характерними гістологічними та імуногістохімічними ознаками вказаної патології є переважна участь в запаленні Т-лімфоцитів та сегментоядерних нейтрофілів, а також Т-лімфоцитарний периваскуліт. В патогенезі захворювання пародонта ключовими є кількісні та якісні зміни Т-лімфоцитів і співвідношення між субпопуляціями CD4+ Т-лімфоцитами та CD8+ Т-лімфоцитами з переважанням цитотоксичних CD8+ Т-лімфоцитів. Концентрація цитотоксичних Т-лімфоцитів переважно навколо дрібних кровоносних судин вказує на те, що цитотоксична агресія, в першу чергу, направлена на клітини стінок кровоносних судин, запускаючи процес їх пошкодження. Т-лімфоцитарному васкуліту не слід давати однозначну етіологічну роль, оскільки Тс агресія проти судин може бути обумовлена пошкодженням кровоносних судин різної природи. Головним, по всій видимості, є зміни генетичних та фенотипових особливостей клітин стінок кровоносних судин, що, в кінцевому результаті, стає причиною Т-лімфотичної цитотоксичної агресії по відношенню до кровоносних судин.

Гістологічне дослідження біопсійного матеріалу щурів при пародонтиті показало, що характерною морфологічною ознакою, яка пародонтит відрізняє від інших нозологій, є пошкодження слинних залоз. Гістологічно при цьому виявляються перигранулярні інфільтрати. Імуногістохімічні дослідження, проведені нами вперше, показали, що в лейкоцитарному інфільтраті при пародонтиті з явною перевагою представлені CD4+ та CD8+ Т-лімфоцити. Це вказує на те, що автоімунні процеси при пародонтиті направлені на слинні залози, переважно, дрібні, що, в цілому, запускає патологічний процес. Концентрація CD8+ Т-лімфоцитів навколо кровоносних судин при гінгівіті та навколо дрібних слинних залоз при пародонтиті з лімфоепітеліальними та

лімфоендотеліальними пошкодженнями свідчить про автоімунну цитотоксичну агресію в патогенезі вивчених захворювань. Ендокринній системі належить провідна роль в регуляції метаболічних процесів і в підтримці загального гомеостазу організму [7], що значною мірою визначають його резистентність як в нормі, так і при дії патологічних факторів. Поряд з цим у багатьох гормонів виявлена здатність впливати на швидкість проліферації, ангиогенез, апоптоз та активність імунокомпетентних клітин [26, 27, 40, 43, 53, 56, 65, 66]. При дослідженні рівнів паратиреоїдного гормону та кальцитоніну були виявлені наступні закономірності: вірогідне підвищення рівня паратиреоїдного гормону у щурів з гінгівітом порівняно з контролем в 1,8 разів (контроль – $7,85 \pm 1,03$; гінгівіт – $14,20 \pm 7,51$). Рівень паратиреоїдного гормону в групі тварин з пародонтитом також був вище контролю в 1,4 рази (контроль – $7,35 \pm 1,12$, пародонтит – $11,30 \pm 3,12$), а у щурів з альвеолітом рівень цього гормону знижувався в 1,75 разів відносно контролю (контроль – $7,85 \pm 1,03$, альвеоліт – $4,48 \pm 0,68$). При порівнянні рівнів ПТГ у тварин експериментальних груп між собою вірогідні відмінності виявлені між групою щурів з альвеолітом та щурами з гінгівітом. У щурів з пародонтитом він був вище ($p < 0,05$). За рівнем ПТГ експериментальні групи можна розмістити наступним чином: найменшу концентрацію ПТГ ми спостерігали у групі щурів з альвеолітом, більш високу – у щурів з гінгівітом та найвищу – у щурів з пародонтитом. За підвищенням рівня кальцитоніну порядок значень був зворотній. Найвищий рівень ПТГ у щурів з пародонтитом, можливо, свідчить про посилення резорбції в кістковій тканині пародонта, активації остеокластів та резорбції. Найнижчий рівень ПТГ ми спостерігали у щурів з альвеолітом. Це також підтверджує порушення метаболізму кісткової тканини і в цьому випадку можна говорити про напруження адаптаційних механізмів організму та вичерпуванні резервів адаптації. Підвищений рівень кальцитоніну в цій групі, можливо, характеризує особливий характер порушень в лунці після екстракції зуба. Найнижчий рівень кальцитоніну в групі щурів з гінгівітом

може бути показником того, що процес ініціюється іншими механізмами, відмінними від таких в групах з більш високим рівнем гормону. Очевидно, можна говорити про вперше виявлені закономірності підвищення рівня ПТГ в ряді використаних експериментальних моделей та про створення патогенетичних механізмів порушення обміну СТ пародонта. Аналогічна, але зворотня зі знаком, кореляція була виявлена при дослідженні рівня кальцитоніну при альвеоліті, пародонтиті та гінгівіті. Концентрація естрадіолу в крові щурів як у інтактної групи тварин, так і при захворюваннях залишалася практично на рівні контролю: у інтактних тварин його концентрація в крові складала $1,90 \pm 0,20$ нмоль/л, при пародонтиті – $1,88 \pm 0,23$ нмоль/л, при гінгівіті – $1,86 \pm 0,21$ нмоль/л, при альвеоліті – $1,88 \pm 0,18$ нмоль/л. Зменшення показників концентрації естрадіолу в крові при пародонтиті та гінгівіті статистично невірогідне ($p > 0,05$). Таким чином, отримана послідовність змін при захворюваннях, що вивчалися, відображає значення гормонального фактору в патогенетичних механізмах розвитку порушень метаболізму СТ пародонта. Оскільки ПТГ є одним із модуляторів обміну СТ, зміни його вмісту в крові можуть характеризувати один із механізмів регуляції обміну СТ та бути одним із механізмів розвитку захворювань тканин пародонта. Для більш повної об'єктивної оцінки стану кісткової тканини у щурів із захворюваннями пародонта, ми вивчали щільність кісткової тканини при кожній патології окремо. Щільність кісткової тканини тісно пов'язана з функцією гормонів та мікроелементів.

Встановлено, що порівняно з контрольною групою із середнім значенням $1,62$ г/см³ цей параметр у щурів з альвеолітом знижувався до $1,41$ г/см³ ($p < 0,05$). В групі тварин з пародонтитом при дослідженні щільності кісткової тканини було встановлено її достовірне зниження ($1,43 \pm 0,04$ г/см³) порівняно з групою інтактного контролю ($p < 0,05$), що підтверджує порушення ремоделювання кісткової тканини в цій групі. Відношення маси кісткової тканини до діаметра зразка, взятого для дослідження у щурів з альвеолітом було меншим, ніж в контролі ($p < 0,05$). У тварин з гінгівітом

значення цього параметру не відрізнялося від значень щурів контрольної групи ($p < 0,05$). Проведена морфологічна верифікація вивчених тканин, що виявила деструктивні зміни в СТ експериментальних тварин, серед яких зниження відносної площі трабекул та розширення міжтрабекулярного простору є одним із головних симптомів розвитку резорбції тканин пародонта. Оскільки кальцитонін зменшує вміст кальцію і фосфору в крові, стимулює їх поступання в кістки, інгібує активність остеокластів і зменшує кількість остеобластів, котрі пригнічують кісткову резорбцію, підвищує екскрецію з сечею фосфора, калія, магнія і води і стимулює перетворення неактивної форми вітаміну D₃ в нирках в активну, пригнічує розпад колагену та вихід мінеральних компонентів із матриксу кістки [2, 65, 66], ми продовжили в наступній серії експериментів вивчати вплив кальцієво-фосфорного обміну на процеси руйнування та відновлення СТ пародонта. Одержані нами в попередніх дослідях різнонаправлені дії ПТГ та кальцитоніну, за даними літератури, сприяють підтримці постійної концентрації іонів кальцію (Ca²⁺) в крові; кісткова втрата може розвиватися внаслідок впливу різних факторів, які впливають на рівень ПТГ, посилюючи резорбцію в кістковій тканині. Аналіз порушень біохімічних маркерів кісткового метаболізму показав, що після клінічного прояву альвеоліту та мікробної контамінації лунок зубів, які видалили, виявлені зсуви показників кальцій-фосфорного обміну у щурів. Було зареєстровано недостовірне зниження вмісту Ca в крові ($1,85 \pm 0,08$ ммоль/л, при нормі $2,09 \pm 0,05$ ммоль/л). Індивідуальний аналіз кожного щура (коливання 1,65 - 2,52 ммоль/л) показав, що у більшості щурів (17 – 73,6 %) рівень Ca в крові знижувався, у 3 щурів (26,4 %) його вміст залишався в межах норми. При цьому у щурів з гіпокальціємією на початку експеримента спостерігали ознаки перифокального запалення (гіперемія, локальний набряк ясен), що потребує застосування протизапальної терапії. Враховуючи наявність в організмі щурів великого депо кальцію у вигляді кристалів гідроксиапатиту, в кістках або відбувається вивільнення кальція із депо, або, навпаки, його

зв'язування. Цей процес відіграє важливу роль в регуляції концентрації іонів кальцію в крові. Так, рівень іонізованного Са в крові щурів з альвеолітом складав, в середньому, $0,92 \pm 0,05$ ммоль/л (при нормі $1,15 \pm 0,08$ ммоль/л; $p < 0,05$). Необхідно відмітити, що у більшості щурів (19 щурів – 54,7 %) його вміст був вище норми в 1,3 – 1,9 рази ($p < 0,05$), у одного щура (14,5 %) – помірно знижувався (в 1,2 – 1,4 рази; $p < 0,05$), у решти – рівень вільного Са не виходив за межі референтної норми. Враховуючи особливу важливість концентрації внутрішньоклітинного кальцію для функціонування багатьох клітин та тканин організму його концентрація регулюється в досить низьких межах. За класичними уявленнями головна роль в цьому процесі належить ПТГ. Концентрація ПТГ в крові щурів з альвеолітом, в середньому, складала $4,85 \pm 1,23$ пг/мл, що в 5,11 рази менше норми (при нормі $24,8 \pm 7,5$ пг/мл; $p < 0,05$). При індивідуальному аналізі встановлено, що лише в 14 щурів (26,4 %) концентрація цього гормону не виходила за межі нормальних значень, у решти – концентрація ПТГ знижувалася. Синтез гормону може стимулювати підвищена концентрація фосфору, причому ПТГ пригнічує реабсорбцію кальцію, активує остеобласти і опосередковано стимулює формування остеобластів і їх активність. У експериментальних тварин вміст неорганічного фосфору в крові був підвищений, відносно норми, в 1,38 рази ($p < 0,05$). З регуляцією обміну Са пов'язана головна функція кальцитоніну, гормону, що синтезується С-клітинами щитоподібної залози, є самим потужним інгібітором кісткової резорбції [32, 43]. Концентрація кальцитоніну в крові щурів з альвеолітом дорівнювала, в середньому, $1,9 \pm 0,3$ пг/мл, тобто, була знижена в 5,42 рази (при нормі $10,3 \pm 1,2$ пг/мл, $p < 0,01$). При цьому у всіх тварин його концентрація не перевищувала 2,0 пг/мл. Встановлено негативний кореляційний взаємозв'язок між рівнем вільного (іонізованного) Са і вмістом кальцитоніну в сироватці крові. В експерименті доведено, що коливання концентрації цього гормону майже не впливають на розвиток кісткової системи. Однак, помірне зниження кальцитоніну в крові може продовжувати період формування лунки після видалення зуба при

поступанні неорганічного кальцію в організмі. В експерименті у щурів рівень Са і неорганічного Р в добовій сечі був суттєво вищим. Концентрація Са в добовій сечі була вище норми в 2,07 рази і складала $5,44 \pm 0,4$ ммоль/л (при нормі $2,63 \pm 0,35$ ммоль/л; $p < 0,001$). Рівень неорганічного Р у щурів з альвеолітом був підвищеним в 11,8 рази відносно норми ($1,35 \pm 0,09$ ммоль/л; $p < 0,05$). Таким чином, у щурів відмічалось наростання концентрації неорганічного фосфору в крові, а також кальцію і неорганічного фосфору в сечі. За результатами проведених досліджень та аналізу біохімічних маркерів кісткового метаболізму виявлені значні зсуви кальцій-фосфорного обміну у щурів з пародонтитом та його участю в резорбції м'яких тканин пародонта.

Окрім гормонів, кальція та фосфору в багатьох біохімічних процесах в організмі бере участь велика кількість мікроелементів [13, 16, 44, 59, 60]. Тому в наступній серії експериментів нами була вивчена роль таких мікроелементів в процесах росту та дозрівання сполучної тканини, як мідь та цинк. Встановлено, що в крові щурів з гінгівітом вміст міді збільшувався в 1,4 рази відносно контролю та складав $22,48 \pm 0,59$ мкмоль/л при нормі $18,7 \pm 0,56$ мкмоль/л ($p < 0,05$). В 75 % випадків контрольної групи щурів рівень міді знаходився в межах 15 – 21 мкмоль/л, а в 25 % тварин – 21 – 24 мкмоль/л. У 30 % щурів з гінгівітом вміст міді знаходився в межах норми – 15 – 21 мкмоль/л, у 24 % - від 21 до 24 мкмоль/л, у 36 % - вміст міді був підвищеним – 24–27 мкмоль/л. У 10 % щурів концентрація міді в плазмі крові різко підвищувалась (більше 27 мкмоль/л). Таким чином, вміст міді в плазмі крові тварин підвищувався в 46 % щурів. В той же час у 54 % тварин значення цього показника відповідали аналогічним показникам контрольної групи. У щурів з пародонтитом вміст міді був в межах норми ($19,98 \pm 0,64$ мкмоль/л ($p < 0,05$)) – 80 % тварин. Лише, у 20 % щурів рівень міді в плазмі крові був різко підвищеним (від 24 до 27 мкмоль/л). Оскільки мідь володіє вираженими протизапальними властивостями, пом'якшує прояви автоімунних захворювань, концентрація міді в крові підвищується при гострих та хронічних запальних захворюваннях [19, 20, 32, 41, 47]. Тому

розвиток гіперкупремії, можливо, можна розглядати як компенсаторну реакцію у відповідь на дію пошкоджуючих факторів. Таким чином, можна припустити, що порушення обміну міді у тварин з пародонтитом є патогенетичним і, можливо, у деякій мірі відображає розвиток склеротичних змін у пародонті. Вміст цинку в плазмі крові був знижений у щурів обох груп, причому найбільш виражено (в 1,4 рази) у щурів з пародонтитом. У тварин з гінгівітом середній рівень цинку в плазмі крові складав $26,69 \pm 0,32$ мкмоль/л ($p < 0,05$), у тварин з пародонтитом – $21,73 \pm 1,36$ мкмоль/л ($p < 0,05$). В нормі рівень цинку складав $30,75 \pm 0,39$ мкмоль/л (в 65 % випадків – 30 – 35 мкмоль/л, в 35 % - 25 – 30 мкмоль/л). У більшості (83 %) щурів з гінгівітом вміст цинку знаходився в межах 25 – 30 мкмоль/л, значень в межах 30 – 35 мкмоль/л, відповідних максимуму для контрольної групи, не спостерігали. У групі щурів з пародонтитом (у 40 %) вміст цинку в крові складав 25 – 30 мкмоль/л, у 60 % - 10 – 25 мкмоль/л, що відповідало зниженню концентрації цинку в крові в 2 – 2,5 рази. Таким чином, у тварин рівень цинку в крові був зниженим та найбільш виражені зміни спостерігали в групі щурів з гінгівітом. Причому, гіпоцинкемія наростала пропорційно тяжкості клінічних проявів (погіршувався загальний стан, скуйовджувалась шерсть, був відсутній апетит). Результати проведених нами експериментів вказують на виражені порушення обміну мікроелементів – міді та цинку при запальних захворюваннях пародонта. Вірогідно, зміни концентрації цих мікроелементів призводять до виникнення визначеного біохімічного стану, при якому відбувається розвиток захворювання. Можна припустити, що порушення їх метаболізму має патогенетичне значення в розвитку процесів резорбції та ремоделювання СТ пародонта. В цілому, гіпокупремія та гіпоцинкемія, практично, не обтяжує процеси резорбції сполучної тканини у щурів з гінгівітом і альвеолітом, у щурів з пародонтитом може гальмувати проліферацію клітин сполучної тканини та прискорювати процес дозрівання протеогліканів. Іони міді є необхідним матеріалом, як в процесі резорбції, так

і в процесі ремоделювання при хворобах пародонта. Ці результати одержані нами вперше. Визначення кислотно-основного стану крові та слини порожнини рота щурів, оскільки, за даними наукової літератури, рН слини є індикатором захворювання тканин пародонта [12, 15, 18, 28, 29, 31]. Встановлено, що зсув рН навіть на 0,1 в кислий бік є сигналом значних порушень енергетичного обміну та зв'язаною з ним системи підтримки гомеостазу ротової порожнини, а зниження рН до 6,6 супроводжується інгібуванням активності процесів перекисного окиснення ліпідів. Одержані результати оформлені в практичних рекомендаціях. Особливу увагу дослідників на сьогодні привертають дослідження участі СТ організму в механізмах розвитку патологічних процесів [24]. Однак, питання резорбції та ремоделювання СТ пародонта при запальних захворюваннях безпосередньо на сторінках наукової літератури не обговорювалися з урахуванням загальних понять та представлень про резорбцію та ремоделювання в медицині і біології, про фактори, що стимулюють або пригнічують ці процеси. Тому, на другому етапі нашого дослідження було проведено вивчення функціональної активності тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному моделюванні порушень СТ при захворюваннях пародонта. В якості індуктора використовували аденозиндифосфат (АДФ) в концентрації 2,5, 5,0 та 10 мкмоль/л. Запис агрегатограм проводили при 37° протягом 10 хвилин. Аналіз агрегаційної кривої включав в себе оцінку типу агрегатограми та визначення наступних показників: 1) ступеня агрегації – максимального % світлопропускання плазми; 2) часу досягнення максимальної швидкості агрегації – часу досягнення максимального % світлопропускання; 3) швидкості агрегації, що розраховується протягом 30 секунд після початку агрегації тромбоцитів. Оцінку агрегаційної активності тромбоцитів проводили за методом С. Б. Павлова [23]. Дослідження проводили на щурах-самцях з пародонтитом, гінгівітом та альвеолітом. Аналіз агрегатограм при всіх захворюваннях пародонта виявив однонаправленість дій при всіх концентраціях індуктора агрегації (2,5, 5,0 та

10,0 мкмоль/л АДФ), що виражалося у зниженні всіх показників. Однак, якщо у щурів з експериментальним пародонтитом виявлені чіткі зміни функціональної активності тромбоцитів при всіх концентраціях індуктора агрегації (АДФ в дозі 2,5 мкмоль/л, 5,0 та 10,0 мкмоль/л), при використанні яких знижується ступінь та швидкість агрегації, а також час досягнення максимальної швидкості агрегації, то у щурів з альвеолітом низькі концентрації (2,5 мкмоль/л) аденозиндифосфата підвищують функціональну активність тромбоцитів, що характеризує ступінь та швидкість агрегації і не змінюють ці показники у тварин з гінгівітом. Високі концентрації (5,0 та 10,0 мкмоль/л) аденозиндифосфата не впливають на функціональну активність тромбоцитів у тварин з гінгівітом, однак призводять до зниження швидкості агрегації та часу максимальної швидкості та ступені агрегації. Найбільш виражені зміни спостерігали при пародонтиті. Наприклад, ступінь агрегації, % в контролі $87,3 \pm 10,27$, при пародонтиті – $64,88 \pm 1,55$; час досягнення максимальної швидкості агрегації, с в контролі $270,4 \pm 32,25$, при пародонтиті – $264,25 \pm 26,87$; швидкість агрегації %/хв в контролі $79,5 \pm 10,43$, при пародонтиті – $56,3 \pm 1,74$; кількість тромбоцитів тис/мкл в контролі $226,6 \pm 10,09$, при пародонтиті – $214,2 \pm 4,14$. При мікроскопічному дослідженні констатували порушення гістоархітектоніки сполучної тканини пародонту. В окремих мікропрепаратах сполучна тканина пародонту утворювала широкі фіброзні поля, інфільтровані лімфоцитами та гістоцирними елементами. У прошарках сполучної тканини спостерігали розширення дрібних капілярів, а в деяких препаратах – переповнені кров'ю судини, що свідчило про порушення мікроциркуляції крові, зрив регуляторних механізмів репарації та вихід патологічного процесу на системний рівень. Не останню роль в цих процесах відігравала взаємодія клітин сполучної тканини з тромбоцитами. Виявлені порушення агрегаційної здатності тромбоцитів в кінці експерименту можна пояснити тим, що в сполучній тканині в процесі захворювання знижується кількість фібриногену, що синтезується, який приймає участь в процесах первинної, зворотної

агрегації, зв'язуючись з рецепторами в мембрані тромбоцитів – глікопротеїдами та активованими тромбоцитами [34]. При зниженні рівня фібриногену плазми та тромбоцитів послаблюється утворення мікроагрегатів, зворотних агрегатів і не зворотних. Крім цього, при фіброзуванні та склерозуванні сполучної тканини відбувається підвищення рівня циклічних нуклеотидів в тромбоцитах, що знижує їх агрегаційну активність [11, 34]. Нами встановлено, що концентрація індуктора агрегації 10 мкмоль/л є основним молекулярним посередником зриву природного перебігу репаративної регенерації. Крім того, виявлено наявність взаємозв'язку між ступенем агрегації тромбоцитів та рівнем ІЛ-6 при концентрації АДФ 10,0 мкмоль/л при пародонтиті, оскільки тромбоцити після їх активації здатні виділяти низку цитокінів, що може додавати внесок до цих процесів [1, 4, 10]. Це пояснює наявність зв'язку між агрегаційною активністю тромбоцитів та концентрацією прозапального ІЛ-6. У організмі, при різних ситуаціях, каскад підвищення рівнів цитокінів починається з прозапальних цитокінів – ІЛ1, фактору некрозу пухлини, потім ІЛ-6. Після цього настає підвищення рівня протизапальних цитокінів, одним з яких раніше вважали ІЛ-4. Але останні дослідження дозволяють припустити, що ІЛ-4 є регуляторним цитокіном із плейотропними ефектами, який до того ж сам може активувати ІЛ-6 [54, 60, 63, 67]. Одним із показників, який використовується для вивчення процесів обміну СТ, є рівень оксипроліну (одна із амінокислот колагену) в сироватці крові, який відображає як раз інтенсивність процесу колагенутворення [17]. Ми вивчали рівень вільного (ВОП), білокзв'язаного (БЗОП) та пептидозв'язаного оксипроліну (ПЗОП) в сечі та в крові щурів з пародонтитом, гінгівітом і альвеолітом [22, 33], оскільки в крові оксипролін може знаходитися у вільному, пептидно- і білокзв'язаному вигляді. Рівень вільного оксипроліну (ВОП) в сироватці крові відображає процеси деградації колагену, рівень білокзв'язуючого оксипроліну (БЗОП) – процеси біосинтезу білка. Літературні дані про вміст пептидозв'язаного оксипроліну (ПЗОП) не мають однозначної інтерпретації.

Вважається, що вміст ПЗОП відображає одночасно ступінь розпаду та синтезу колагену. Проведені нами дослідження підтверджують відомі літературні дані про те, що запалення супроводжується активізацією як процесів синтезу, так і розпаду колагену. В результаті проведеного експеримента було встановлено, що вміст сумарного оксипроліну в сечі через добу після початку експерименту складав при гінгівіті $0,28 \pm 0,08$ мг/добу і практично не відрізнявся від рівня контролю ($0,26 \pm 0,04$ мг/добу).

Цей же показник при пародонтиті виріс до $0,81 \pm 0,16$ мг/добу ($p < 0,05$). При гінгівіті відмічалася тенденція до підвищення фракції вільного оксипроліну – $0,10 \pm 0,03$ мг/добу (при рівні контролю $0,06 \pm 0,01$ мг/добу), а при пародонтиті його вміст підвищувався більш значно – $0,24 \pm 0,05$ мг/добу ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою тварин. Крім цього, ми спостерігали тенденцію до підвищення фракції зв'язаного оксипроліну – $0,17 \pm 0,05$ мг/добу – в групі з гінгівітом (при рівні контролю – $0,14 \pm 0,03$ мг/добу) та значне підвищення при пародонтиті ($0,57 \pm 0,12$ мг/добу) ($p < 0,05$). При дослідженні в сечі рівня загального білка та альбуміну, креатиніну та сечовини, виявлено, що рівень загального білка у щурів з гінгівітом різко виріс порівняно з контролем в 3,2 рази ($p < 0,05$). Рівень альбуміну у цих щурів мав тенденцію до підвищення. Вміст креатиніну в сечі практично залишався на тому ж рівні $3,68 \pm 0,62$ мг/добу – в контролі та $2,99 \pm 0,66$ мг/добу відповідно. Розвиток захворювань – гінгівіту та пародонтиту, і, в меншій мірі, альвеоліту, про що свідчать результати експериментів, запустив процеси резорбції СТ пародонта і динаміка цих патологічних процесів свідчить про те, що поряд з пошкодженням м'яких і твердих тканин пародонта, проходить процес їх поступового відновлення, тобто ремоделювання. Однак, подальший розвиток патологічних процесів, вірогідно, залежить від ступеня первинних пошкоджень в СТ. Якщо сила дії виходить за межі її можливостей адаптації, то можливий вибух, в результаті якого замикається ланцюг позитивного зворотного зв'язку патологічного процесу. В результаті розвиток патологічного процесу може продовжуватися

навіть після клінічного видужання та відновлення гомеостазу. Це припущення базується на тому, що рівень оксипроліну, який є маркером резорбтивних процесів, повністю не нормалізується. Цей факт узгоджується із відповідними на даний момент поглядами. Разом з тим не можна говорити про зрив адаптаційних механізмів організму в цілому, оскільки поряд з ростом рівня вільного оксипроліну, що свідчить про початок резорбції кісткової тканини, спостерігається підвищення вмісту і зв'язаного оксипроліну, котрий є індикатором синтетичних процесів в фізіологічній системі СТ. Цей факт відображає як відновні процеси в СТ пародонта, так і посилення синтезу колагену. Вірогідність цього процесу може підвищуватися внаслідок синергізму запального процесу в м'яких тканинах пародонта на фоні напруження механізмів адаптації в фізіологічній системі СТ.

Нами вперше встановлено, що інформативним методом для ранньої діагностики резорбції і ремоделювання СТ при запальних захворюваннях пародонта є визначення вмісту оксипроліну в добовій сечі щурів. Динаміка оксипроліну в сечі при патології пародонта свідчить про те, що поряд з резорбцією паралельно йдуть процеси ремоделювання СТ пародонта. Встановлене нами раніше зниження функціональної активності тромбоцитів при пародонтиті тягне за собою зниження рівня в сечі усіх трьох фракцій оксипроліну та свідчить про спільність процесів, що відбуваються в крові і СТ і пов'язані із порушеннями метаболізму в ній, зниження синтезу та розпаду колагену. Процесам перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантного захисту організму надається досить велика увага [8, 26, 44]. З одного боку, кисень абсолютно необхідний для дихання і процесів окиснення вуглеводів, білків і жирів, що супроводжується вивільненням великої кількості енергії, потрібної для нормального функціонування організму; з іншого – активні форми кисню викликають деструкцію клітинних структур, загибель мембран і органел. Утворенню радикалів сприяють куріння, пестициди, озон, токсичні відходи тощо. Найзагальніша і найдавніша реакція клітини на будь-які стресові події – це посилення

продукування енергії електрон-транспортними системами мітохондрій і мікросом (ендоплазматичного ретикулуму) зі збільшенням споживання кисню [3]. Усі джерела активних форм кисню потребують антиоксидантного обмеження. Якщо активація вільнорадикального окиснення відіграє таку важливу роль у механізмі стресу, а будь-яке втручання на тварині – для неї стрес, то системи антиоксидантного захисту, які є на всіх рівнях структури організму, виступають як найважливіша внутрішня сила протидії стресовим ушкодженням і порушенням [39, 42, 48]. Антиоксиданти містяться в організмі всюди, де є певна небезпека виникнення окисного вибуху [38, 48].

Компоненти системи цього захисту – антиоксидантні ферменти мітохондрій і цитозолу клітин (розчинні й мембрано-асоційовані), ферменти крові, жиро- і водорозчинні антиоксиданти, тіолові сполуки, металотіонеїни, а також репаративні системи – функціонують координовано. Основні антиоксидантні ферменти – супероксиддисмутази (СОД) і каталаза. СОД нейтралізують супероксидний іон-радикал, перетворюючи його на воду і пероксид водню – активний окисник, який знешкоджується каталазою. Мідь/цинк-вмісна супероксиддисмутаза (CuZnСОД) є в цитозолі, а марганець-вмісна (MnСОД) – у мембранах і матриксі мітохондрій. Каталаза міститься в пероксисомах. Відома також CuZnСОД, яка знаходиться в крові і захищає від пероксидації ендотелій судин. Відновлений глутатіон (GSH) є головним фактором підтримання внутрішньоклітинного редокс-гомеостазу, він безпосередньо інактивує АФК і також функціонує як кофактор і косубстрат GSH-залежних ферментів. Як і цистеїн, тіоредоксин, ерготіонеїн, він відновлює дисульфідні групи до тіолових, бере участь у тіол-дисульфідному обміні. Глутатіонпероксидаза розкладає пероксид водню до води у взаємозв'язку з окисненням глутатіону [3, 42]. У крові людини і тварин містяться церулоплазмін – головний позаклітинний антиоксидантний фермент, якому притаманна СОД-активність. Поряд з антиоксидантними ферментами захищають клітини і тканини від окисного стресу також ферменти і білки, що зв'язують іони металів зі змінною валентністю і

блокують їх здатність каталізувати окиснення і пероксидацію [21]. В зв'язку з вищенаведеним для вивчення кисневозалежних механізмів в патогенезі захворювань пародонта ми, поряд з продуктами ПОЛ та АОС, що широко вивчаються, відібрали еритроцити, мітохондрії та циркулюючі імунні комплекси, які до теперішнього часу в контексті кисневозалежних механізмів в патогенезі захворювань, не вивчались. Нами встановлено, що в групі кролів з пародонтитом стан вільно-радикальних процесів в СТ пародонта змінюється. Так, при дослідженні стану ПОЛ та АОС у сироватці крові спостерігали активацію ПОЛ і зниження антиоксидантного захисту. Про це свідчить збільшення церулоплазміну в 1,9 рази та МДА в 1,6 рази порівняно з інтактним контролем, зниження показника АПІ в 3,4 рази. Концентрація церулоплазміну, мг% в контролі – $27,5 \pm 0,9$, при пародонтиті – $52,6 \pm 0,9$; ТБК-реактанти, мкмоль/г в контролі – $1,30 \pm 0,08$, при пародонтиті – $2,1 \pm 0,07$; каталаза, мккат/г в контролі – $0,55 \pm 0,06$, при пародонтиті – $0,36 \pm 0,08$. АПІ, ум.од. в контролі – $0,42 \pm 0,07$, при пародонтиті – $0,17 \pm 0,03$. Паралельно з кров'ю стан ПОЛ та АОС ми досліджували в гомогенаті альвеолярного відростка нижньої щелепи пародонта та отримали однонаправлені результати. Зсуви, що відбуваються в системі ТБК-реактантів, каталази і церулоплазміну підтверджували порушення антиоксидантного захисту пародонта, про- та антиоксидантного балансу в тканинах пародонта. Одержані нами результати узгоджуються із даними інших авторів [6, 25, 37, 45]. В підтвердження одержаних результатів ми продовжили експерименти з вивчення енергетичного метаболізму мітохондрій, досліджували реакцію еритроцитів щурів при гінгівіті за умов дихальної гіпоксії і визначали рівень циркулюючих імунних комплексів та їх молекулярний склад у тварин із захворюваннями пародонта. В результаті аналізу одержаних даних ми прийшли до висновку, що за умов нормобаричної гіпоксії розвивається окиснювальний стрес та посилення генерації АФК, підвищується загальний рівень ЦІК, в основному, за рахунок підвищення найбільш токсигенних дрібно (<11 S) та середньомолекулярних

(11 S – 19 S) імунних комплексів. В більшій мірі збільшення рівня ЦІК ми відмічали в групі щурів з пародонтитом в 1,60 разів, в групі з гінгівітом в 1,59 разів. В подальшому при вивченні функціонального стану ЦІК було виявлено, що підвищення концентрації ЦІК відбувається за рахунок найбільш патогенних середньомолекулярних (11 S – 19 S) та дрібномолекулярних (<11 S) імунних комплексів. Дійсно, абсолютний вміст середньомолекулярної фракції (11 S – 19 S) в групі щурів з гінгівітом був підвищений в 2,02 рази; в групі тварин з пародонтитом – в 2,0 рази ($p < 0,05$). Що стосується концентрації дрібномолекулярних імунних комплексів, то у щурів з пародонтитом вона була підвищена в 1,74 рази, а в групі тварин з гінгівітом – в 1,72 рази ($p < 0,05$). Важливо, що в той же час абсолютна концентрація крупномолекулярних ІК (>19 S) у більшості тварин обох груп була на рівні контрольної інтактної групи чи була дещо вище верхньої межі норми ($p < 0,05$). Разом з тим, відносна концентрація цієї фракції ІК зменшилась в групі щурів з пародонтитом в 1,28 рази; в групі щурів з гінгівітом – в 1,27 разів. Енергетичний метаболізм мітохондрій, в зв'язку з накопиченням токсичних продуктів в еритроцитах, знижується. Таким чином, проведені нами дослідження виявили широкий спектр кисневозалежних механізмів, задіяних в патогенезі запальних захворювань пародонта. На наступному етапі експериментів вивчали обмінні процеси сполучної тканини організму та їх роль в резорбції та ремоделюванні в тканинах пародонта. Порушення кісткового метаболізму, викликані запальними захворюваннями пародонта призводять до розвитку дисбалансу в механізмах ремоделювання кісткової тканини. Ремоделювання представляє собою пов'язані за часом процеси резорбції та формування кістки, що досягаються за рахунок міжклітинної взаємодії, опосередкованої впливом більшості цитокінів і факторів росту.

Розумінню механізмів розвитку процесів резорбції та ремоделювання СТ пародонта сприяло відкриття системи регуляторних білків остеопротегерину (OPG) [35, 50] – активатора рецептора NF- κ B-ліганд

(RANKL) – RANKL [30, 49], які розглядаються як основні сигнальні шляхи, що контролюють ці процеси в фізіологічних та патологічних умовах [14, 52, 55, 61, 64]. Важливу роль в регуляції метаболізму кісткової тканини також відіграє прозапальний цитокін – інтерлейкін-17 (IL-17), який продукується активованими Т-клітинами. IL-17 здатний посилювати диференціацію остеобластів та їх функціональну активність через RANKL (прямим та непрямим шляхом) і інші остеокластогенні фактори, що призводить до формування кістково-деструктивних змін [51, 56, 57, 62]. Нами встановлено, що у щурів із пародонтитом є значні відмінності цитокінового профілю від щурів контрольної групи (вісфатин в контролі $140,71 \pm 8,68$ мкг/мл, при пародонтиті – $134,06 \pm 8,81$ мкг/мл; вміст IL-17 в контролі $28,20 \pm 0,52$ пг/мл, при пародонтиті $33,06 \pm 0,10$ пг/мл). Рівні IL-1 Ra та IL-17 в групі тварин з пародонтитом були вищі, ніж в контрольній групі щурів ($p < 0,05$), а рівень TGF β 1 був нижчим, чим в контролі. Вперше виявлена позитивна кореляція між адипонектином та IL-17, між рівнями IL-1 Ra та IL-17, а також негативна кореляція між рівнями вісфатину та IL-17, між IL-1 Ra та вісфатину, між TGF β 1 та вісфатину, IL-17 та адипонектину. Рівень IL-1 Ra підвищувався у щурів всіх експериментальних груп ($p < 0,05$). Виявлені взаємозв'язки в системі регуляції дії сполучної тканини пародонта між одними парами цитокінів та появою їх між іншими парами свідчить про порушення роботи регуляторних механізмів при пародонтиті та гінгівіті.

Можна припустити, що зміни цитокінового профілю у щурів з пародонтитом пов'язані з початком переходу вже запущеного процесу резорбції кісткової тканини, ініційованого запаленням, в фазі компенсаторних реакцій. Про це свідчить зниження рівня RANKL та тенденція до підвищення рівня OPG. Можливо, альтерація, викликаючи першу стадію стресової реакції у тварин, дозволяє адаптаційним механізмам організму перейти в наступну стадію – стадію обмеженої резистентності. Підвищення рівня IL-1Ra також вносить внесок в процеси протидії впливу протизапальних цитокінів, до якого відноситься RANKL. Неоднозначно

можна трактувати зниження рівня $TGF\beta$ в зв'язку з його модуляторними функціями в системі цитокінів. Підвищення ж рівня IL-17 підтверджує факт розвитку процесу резорбції, яка була індукована альтерацією тканин пародонта. Під час дослідження рівня адипонектину та вісфатину у щурів з альвеолітом відзначалося, що медіана вмісту адипонектину у сироватці склала 0,62 мкг/мл, вісфатину – 141,31 мг/мл. Вперше встановлено, що при порушенні кісткового метаболізму у щурів з альвеолітом знижується рівень адипонектину в сироватці, а рівень вісфатину залишається незмінним, у щурів з пародонтитом підвищуються рівні обох адипокінів. Підвищений рівень IL-4 на тлі зниження рівня IL-6 в групі тварин з пародонтитом може свідчити про реалізацію патологічної відповіді організму на пошкодження. Важливо враховувати, що IL-6 – профіброгенний цитокін, він підвищує синтез фібробластами колагену та тканинного інгібітору матричної металопротеїнази-1 [36, 46, 58, 63]. При низькому рівні IL-6 у СТ в цілому не відбувається достатньої стимуляції синтезу колагену, в тому числі і в СТ пародонта. Відповідно, СТ втрачає колагеновий матрикс і не відновлює його шляхом активації синтетичних процесів. Це тягне за собою порушення її ремоделювання [24, 67]. Клітини, що відповідають за контроль кісткового ремоделювання, є остеобласти, відповідальні за виробництво нової кісткової речовини, і остеокласти – спеціалізовані клітини гемопоетичного походження, що відповідають за резорбцію неорганічного та органічного кісткового матриксу. Функції остеобластів та остеокластів в нормальній кістковій тканині скоординовані [14]. Активність остеокластів регулюється багатьма цитокінами, включаючи інтерлейкіни (IL) 1, 6 та 11, колонієстимулюючими факторами, кальційтропними гормонами, в тому числі паратиреоїдним гормоном, 1,25-дигідроксивітаміном D_3 , кальцитоніном [14]. Відносно нещодавно було показано, що ключовою молекулярною ланкою в формуванні, функціонуванні та виживанні остеокластів є система рецептора активатора ядерного транскрипційного фактора каппа В (RANK), його ліганда RANKL та остеопротегерину (OPG).

RANKL є членом суперсімейства лігандів фактора некроза пухлин (ФНП; TNF), а RANK – рецептором споріднених рецептору ФНП (TNFR). Взаємодія RANKL, що експресується кістковими стромальними клітинами остеобластної лінії, і RANK, що експресується попередниками остеокластів мієлоїдного походження, необхідна для диференціювання, виживання і активації остеокластів. В експериментах на моделях пригнічення як RANK, так і RANKL призводило до значного остеопорозу в результаті недостатності остеокластів, а також порушенню резорбції кістки. Взаємодія між RANK та RANKL стимулює остеокластогенез через активацію ряду транскрипційних факторів. Другий член суперсімейства TNFR – OPG експресується остеобластами, здатний зв'язувати RANKL і, таким чином, є рецепторною пасткою для даного ліганду. OPG – це розчинний рецептор. Вирішальну його роль в остеокластогенезі та ремоделюванні кісткової тканини вперше показано на моделі трансгенних мишей із надмірною експресією OPG, в яких спостерігалось збільшення маси кісткової тканини в результаті зниження кількості остеокластів. Отже, взаємодія RANKL та OPG інгібує проліферацію остеокластів, їх диференціацію, що в кінцевому результаті попереджує резорбцію кісткової тканини [14]. Нами проведено дослідження по вивченню значення міжклітинних медіаторів (на прикладі RANK-RANKL-OPG та IL-17) в механізмах порушення ремоделювання кісткової тканини в експерименті на моделі пародонтиту. Порушення ремоделювання кісткової тканини контролювали за допомогою прямого вимірювання щільності кістки, яку розраховували як відношення маси кістки (г) до об'єму даної кістки (см³). Об'єм кістки визначали за об'ємом витісненої рідини. При дослідженні щільності кістки було відмічено її зниження в групі тварин з пародонтитом (1,43±0,048 г/см³) у порівнянні з контрольною групою (1,53±0,03 г/см³), що підтверджує порушення ремоделювання кістки в цій групі. Однак, ця різниця була статистично незначуща. Рівні вмісту в крові цитокінів IL-17 та RANKL були достовірно вищі, ніж у інтактних тварин (p≤0,05); (IL-17 пг/мл в контролі – 28,17±0,53, при пародонтиті – 37,141±1,024; RANKL, пмоль/л в

контролі – $0,13 \pm 0,01$, при пародонтиті – $0,18 \pm 0,01$). В той же час у групі тварин з пародонтитом сироваткою рівень OPG був достовірно нижчим аналогічного рівня у тварин контрольної групи ($p \leq 0,05$). (OPG, пмоль/л в контролі – $21,59 \pm 0,76$; при пародонтиті – $16,59 \pm 0,67$). При проведенні кореляційного аналізу було виявлено, що RANKL та OPG слабо корелюють один з одним в контрольній та експериментальній групах, що може свідчити про те, що в регуляції синтезу цитокінів задіяна велика кількість процесів, вплив яких не завжди відображають їх сироваткові рівні. В той же час в групі щурів з пародонтитом RANKL та OPG достовірно корелюють з прозапальним IL-17. Це свідчить про те, що в експериментальній групі IL-17 індукує експресію RANKL та інгібує продукцію остеопротегерину – ключових регуляторів остеокластогенезу, що призводить до втрати кісткової маси в цій групі тварин. Тобто, прозапальний цитокін є прямим стимулятором RANKL і є одним із можливих патогенетичних механізмів.

Вперше виявлені кореляційні зв'язки між рівнем інтерлейкіну-17, RANKL та остеопротегерину, які свідчать про важливу роль досліджуваних цитокінів в порушеннях кісткового ремоделювання при пародонтиті. На останньому етапі роботи ми провели макро- та мікроскопічне вивчення експериментального матеріалу, отриманого у щурів з пародонтитом, гінгівітом та альвеолітом, який був проведений кандидатом біологічних наук, доцентом кафедри гістології ХНМУ Деєвою Т.В., за що ми висловлюємо їй щирі вдячність. Аналіз гістоморфологічного матеріалу переконливо показав, що в запальних тканинах пародонта відбувається постійно як процес резорбції, так і процес ремоделювання. Про це свідчить наявність остеобластів, остеокластів та інших клітин сполучної тканини.

Список використаних джерел у Аналізі та узагальненні результатів досліджень:

1. Аранович А. М., Трофимова Е. В., Сашенков С. Л. Тромбоцитарный гемостаз при distractionном остеосинтезе. *Известия Челябинского научного центра*. 2015. № 4 (30). С. 208–211.

2. Бабенко Г. А., Решеткина Л. П. Применение микроэлементов в медицине. К., 1971. 220 с.
3. Барабой В. А., Резніков О. Г. Фізіологія, біохімія і психологія стресу. К. : Інтерсервіс, 2013. 314 с.
4. Баяхметова А. А., Екешева А. А., Медетбекова А. А. Информативность общего анализа крови у больных с пародонтитом. *Путь науки*. 2016. № 4 (26). С. 140–143.
5. Біологічна роль цинку і необхідність забезпечення адекватного рівня його споживання людиною / М. Д. Тронько та ін. *Вісник НАН України*. 2013. № 6. С. 21–31.
6. Богданов О. В., Костенко В. О. Вільнорадикальні процеси в тканинах пародонта щурів за умов поєданого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2016. № 16 (2). С. 210–213.
7. Богомолец А. А. Продление жизни. К., 1940. 143 с.
8. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах. *Соровский образовательный журнал*. 2000. Т. 6, № 12. С. 13–19.
9. Гусев Е. В., Черешнев В. А. Системное воспаление: теоретические и методологические подходы к описанию модели общепатологического процесса. Часть 1. Общая характеристика процесса. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2012. № 4. С. 3–14.
10. Доманова Е. Т., Зобнин В. В., Соловьев С. Н. Нарушения гемостаза при хронических заболеваниях пародонта. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2017. № 55 (1). С. 114–117.
11. Казанцев А. В., Суетенков Д. Е. Гендерные особенности агрегационных свойств тромбоцитов у больных с хроническим генерализованным пародонтитом. *Пародонтология*. 2014. № 19 (1). С. 7–12.
12. Ким Л. Б., Куликов В. Ю., Стюхляев В. П. Кислотно-основное состояние крови при экспериментальном инфаркте миокарда на фоне дитизинового диабета. *Бюллетень СО РАМН*. 2003. № 1 (107). С. 68–72.

13. Криворучко И. В., Криворучко В. И. Особенности течения и исхода беременности у женщин с анемией на фоне недостаточности цинка. *Физиология человека*. 1997. Т. 23, № 29. С. 82–84.
14. Кушлинский Н. Е., Тимофеев Ю. А., Герштейн Е. С. Система RANK/RANKL/OPG при метастазах и первичных новообразованиях костей. *Молекулярная медицина*. 2013. № 6. С. 3–10.
15. Лабораторные показатели ротовой жидкости и зубного налета у детей с фенилкетонурией / Е. В. Лихорад и др. *Медицинские новости*. 2017. № 6. С. 46–67.
16. Літовка І. Г., Березовський В. Я. Вплив магнію на ремоделювання кісткової тканини. *Фізіологічний журнал*. 2018. Т. 64, № 3. С. 91–99.
17. Мазуров В. И. Биохимия коллагеновых белков. М., 1994. 225 с.
18. Макарова О. В., Третьякович А. Г. Диагностическая значимость биохимического исследования слюны при заболеваниях периодонта у беременных женщин. *Современная стоматология*. 2017. № 1. С. 38–44.
19. Мжелская Т. И. Определения содержания меди, железа и цинка в сыворотке крови с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра «Спектр». *Лабораторное дело*. 1976. № 4. С. 229–232.
20. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А. П. Авцын и др. М., 1991.
21. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньщикова и др. М. : «Слово», 2016. 556 с.
22. Определение свободного и связанного оксипролина в моче / П. Н. Шараев и др. *Лабораторное дело*. 1990. № 12. С. 23–25.
23. Павлов С. Б. Механізми участі фізіологічної системи сполучної тканини у формуванні патологічних процесів : дис. ... доктора мед. наук : 14.03.04 / Сергій Борисович Павлов. Суми, 2017. 394 с.
24. Павлов С. Б., Бабенко Н. М., Кумечко М. В. Роль остеопротегерина, RANKL и интерлейкина-17 в механизмах нарушения костного метаболизма. *Актуальные проблемы транспортной медицины*. 2015. № 3 (1). С. 132–136.

25. Порухення кисневого режиму пародонта при тривалій іммобіляції / І. М. Маньковська та ін. *Інтегративні механізми патологічних процесів : від експериментальних досліджень до клінічної практики : матеріали VII Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів та наук.-практ. конф.* Полтава, 2018. С. 112–113.

26. Про- та антиоксидантна системи і патологічні процеси в організмі людини / О. Г. Резніков, О. М. Полумбрик, Я. Г. Бальон, М. О. Полумбрик. *Вісник НАН України.* 2014. № 10. С. 17–29.

27. Резников А. Г. Гормоны и рак: механизмы канцерогенеза, роста и резистентности к эндокринной терапии (обзор литературы и собственных исследований). *Журнал НАН України.* 2014. Т. 20, № 4. С. 426–438.

28. Румянцев В. А. Кривые рН после стимуляции протеолитической микрофлоры полости рта мочевиной (карбамидом). *Новое в стоматологии.* 2018. № 2 (62). С. 29–34.

29. Румянцев В. А., Петрикас А. Ж. Кислотно-основное равновесие в полости рта. Тверь : ТМИК «ВВВ», 2017. 8 с.

30. Скрипникова И. А., Косматова О. И., Оганов Р. Г. Инновационные методы лечения остеопороза: ингибиторы RANKL. *Профилактическая медицина.* 2016. № 2. С. 23–30.

31. Стасюк О. Н., Альфонсова Е. В., Авсеенко Н. Д. Экспериментальное исследование влияния дефицита кислорода на кислотно-основное состояние. *Современные проблемы науки и образования.* 2016. № 6. С. 18–22.

32. Таджиев Ф. С. Микроэлементы в патогенезе и лечении хронического бронхита (клинико-экспериментальные исследования). *Тер. архив.* 1991. Т. 63, № 3. С. 68–72.

33. Шараев П. Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови. *Лабораторное дело.* 1990. № 5. С. 283–285.

34. Ягода А. В., Корон П. В. Влияние интерферона-α на агрегацию и систему циклических нуклеотидов тромбоцитов при хронических вирусных заболеваниях печени. *Экспериментальная и клиническая фармакология.*

2015. № 4. C. 46–49.

35. Adiponectin stimulates RANKL and inhibits OPG expression in human osteoblasts through the MAPK signaling pathway / X. H. Luo et al. *J. Bone Miner. Res.* 2016. Vol. 21, №. 10. P. 1648–1656.

36. Bonnans C., Chou J., Werb Z. Remodeling the extracellular matrix in development and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 2014. Vol. 15, №. 12. P. 786–801.

37. Choe E., Min D. B. Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2009. Vol. 8. P. 345–358.

38. Diet, nutrition and the prevention of chronic disease. Report of Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva : WHO, 2003. <http://www.whoibdoc>

39. Duracova Z., Gvordijakova A. Oxidants, antioxidants and oxidative stress. *Mitochondrial. Medicine.* N. V. : Springer, 2008. P. 19–54.

40. Early estrogen-induced gene 1, a novel RANK signaling component, is essential for osteoclastogenesis / H. K. Choi et al. *Cell Res.* 2018. Vol. 23, №. 4. P. 524–536.

41. Evaluation of salivary sialic acid level and Cu-Zn- superoxide dismutase activity in type 1 diabetes mellitus / A. Belce et al. *Tohoku J. Exp. Med.* 2018. Vol. 192, №. 3. P. 219–225.

42. Fisher-Wellman K., Bell H. K., Bloomer R. J. Oxidative stress and antioxidant defense mechanism linked to exercise during cardiopulmonary and metabolic disorders. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2009. Vol. 2. P. 43–51.

43. Genetic polymorphism of the calcitonin receptor gene and bone mineral density in Polish population of postmenopausal women / K. Drew et al. *Ginekol. Pol.* 2015. Vol. 76, №. 8. P. 612–618.

44. Gide D. J. The oxidative stress of zinc deficiency. *Metallomics.* 2011. Vol. 3. P. 1124–1129.

45. Halestrap A. P. Calcium, mitochondria and reperfusion injury: a pore way to die. *Biochem Soc Trans.* 2017. Vol. 34, №. 2. P. 232–237.

46. Interleukins 1 beta and 6 but not transforming growth factor-beta are

essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells / E. V. Acosta-Rodrigues et al. *Nat. Immunol.* 2017. Vol. 8, №. 9. P. 942–949.

47. Lewis R. Mineral and bone disorders in chronic kidney disease: new insights into mechanism and management. *Ann. Clin. Biochem.* 2017. Vol. 49, №. 5. P. 432–440.

48. Lobo V., Phatak A., Chandra N. Free radicals and functional foods: impact on human health. *Pharmacol. Rev.* 2010. Vol. 4. P. 118–126.

49. Nagy V., Penninger J. M. The RANKL-RANK Story. *Gerontology.* 2015. Vol. 61, №. 6. P. 534–542.

50. Nybo M., Rasmussen L. M. The capability of plasma osteoprotegerin as a predictor of cardiovascular disease: a systematic review. *Eur. J. Endocrinol.* 2018. Vol. 159, №. 5. P. 603–608.

51. Onishi R. M., Gaffen R. M. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology.* 2017. Vol. 129, №. 3. P. 311–321.

52. Osteoprotegerin, RANKL and bone turnover in postmenopausal osteoporosis / S. Jabbar et al. *J. Clin. Pathol.* 2017. Vol. 64, №. 4. P. 354–357.

53. Palmqvist P., Lundberg P., Persson E. Inhibition of hormone cytokine-stimulated osteoclastogenesis and bone resorption by interleukin-4 and interleukin-13 is associated with increased osteoprotegerin and decreased RANKL and RANK in a STAT6-dependent pathway. *Biological Chemistry.* 2016. №. 281. P. 2414–2429.

54. Paul W. E. History of interleukin-4. *Cytokine.* 2015. Vol. 75, №. 1. P. 3–7.

55. Role of osteoprotegerin in arterial calcification: development of new animal model / Y. Orita et al. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2017. Vol. 27, №. 9. P. 2058–2064.

56. Rondinone C. M. Adipocyte-derived hormones, cytokines and mediators. *Endocrine.* 2016. Vol. 29, №. 1. P. 81–90.

57. Sagalovsky S. , Schonert M. RANKL-RANK-OPG system and bone remodeling: a new approach on the treatment of osteoporosis. *Journal of Clinical*

and Experimental Pathology. 2017. Vol. 10, №. 2. P. 146–153.

58. Salamon A., Toldy E. Role of fibroblasts in physiologic, reparative and pathologic processes. *Orvosi Hetilap*. 2017. Vol. 148, №. 36. P. 1683–1690.

59. Serum osteoprotegerin measurement for early diagnosis of chronic kidney disease-mineral and bone disorder / J. Q. Jiang et al. *Nephrology*. 2017. Vol. 39, №. 3. P. 525–532.

60. Sorenson I. R., Kishore U. Trace elements in medicine. I. R. Sorensen. *New York*. 1984. Vol. 1. P. 93–102.

61. Spartalis M., Papagianni A. Receptor activation of nuclear factor- κ B ligand/ osteoprotegerin axis and vascular calcifications in patients with chronic kidney disease. *World Journal Nephrology*. 2016. Vol. 5, №. 1. P. 1–5.

62. Th17 cells in human disease / L. A. Tesmer et al. *Immunological Reviews*. 2018. Vol. 223. P. 87–113.

63. The effect of periodontal therapy on TNF- α , IL-6 and metabolic control in type 2 diabetics / J. Talbert et al. *J. Dent. Hyg.* 2016. Vol. 80, №. 2. P. 7.

64. The RANKL / OPG system is activated in inflammatory bowel disease and relates to the state of bone loss / A. R. Moschen et al. *Gut*. 2015. Vol. 54. P. 479–487.

65. Vitamin D status, parathyroid function, bone turnover, and BMD in postmenopausal women with osteoporosis: global perspective / N. O. Kuchuk et al. *Journal Bone Miner. Res.* 2018. Vol. 24. №. 4. P. 693–701.

66. Vitamin D with calcium reduces mortality: patient level pooled analysis of 70,528 patients from eight major vitamin D trials / L. Rejnmark et al. *Journal Clin. Endocrin. Metab.* 2016. Vol. 97. №. 8. P. 2670–2681.

67. Wolf J., Rose-John S., Garbers C. Interleukin-6 its receptors: a highly regulated and dynamic system. *Cytokine*. 2014. Vol. 70, №. 1. P. 11–20.

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та сучасне вирішення актуальної проблеми в галузі патологічної фізіології, що полягає у встановленні участі сполучної тканини пародонта в розвитку місцевих запальних процесів та встановленні патогенетичних особливостей резорбції та ремоделювання при пародонтиті, гінгівіті та альвеоліті.

1. Встановлено, що на експериментальне моделювання гострого скипидарного запалення шкіри спини щурів реагує сполучна тканина усіх органів і тканин організму, у тому числі й сполучна тканина пародонта. Фазові зміни сполучної тканини організму щурів у відповідь на місцеве запалення мають як локальний, так і генералізований характер. Етапність процесів, що відбуваються у віддалених від вогнища запалення органах, відповідають класичній схемі розвитку запальної реакції: на ранніх термінах – переважання ексудативних явищ, які на більш пізніх (2 доби) змінюються проліферацією. Разом з відповіддю з боку клітин імунної системи – лейкоцитів, макрофагів, тучних клітин, спостерігаються генералізовані зміни клітин фібробластичного ряду – підвищення їх кількості, продукції колагену та зміни проліферативного потенціалу.

2. Імуноморфологічні та імуногістохімічні дослідження тканин пародонта при запальних захворюваннях показали, що ключовими ознаками в патогенезі пародонтита є зміни кількості Т-лімфоцитів та співвідношення між CD4+ТН та CD8+ТС субпопуляціями; агресія при пародонтиті спрямована на слинні залози, переважно дрібні. При гінгівіті на передній план виступають васкулярні чи виразково-некротичні, зміни (явища периваскуліту). Агресія спрямована переважно на клітини стінок кровоносних судин. Лімфоцити в клітинному інфільтраті представлені тільки CD3+, CD4+ та CD8+Т-лімфоцитами. В-лімфоцити та макрофаги відсутні.

3. Виявлено, що біохімічні маркери кісткового метаболізму (кальцій, фосфор, мідь, цинк) є важливими медіаторами в формуванні сполучної тканини пародонта. Вони можуть як запобігати передчасному їх руйнуванню,

так і сприяти відновленню. Порушення балансу мікроелементів в організмі щурів є одним із етіологічних факторів для змін ремоделювання кісткової тканини. Значні зсуви кальцій-фосфорного обміну спостерігаються у щурів з пародонтитом. Гіпокупремія та гіпоцинкемія, практично, не обтяжують резорбцію кісткової тканини при альвеоліті та гінгівіті, а гіпокупремія у щурів з пародонтитом може гальмувати проліферацію клітин сполучної тканини пародонта та прискорювати процес їх дозрівання. Для пародонтиту характерне також порушення метаболізму кальцію та фосфатів, а також метаболічний ацидоз, який стимулює резорбтивну активність остеобластів.

4. Отримана послідовність зниження оптичної густини кісткової тканини альвеолярного відростку нижньої щелепи у щурів при різних експериментальних моделях відображує значення гормонального фактору у патогенетичних механізмах розвитку порушень метаболізму сполучної тканини пародонта. Оскільки біохімічними критеріями активності патологічного процесу є рівні паратиреоїдного гормону та кальцитоніну – гормонів, що відображають регуляцію обмінних процесів в сполучній тканині пародонту, - за змінами їх вмісту в крові можна судити про активність резорбції та ремоделювання при пародонтиті та альвеоліті. Паратиреоїдний гормон і кальцитонін обумовлюють інгібуючий вплив на формування кісткової тканини. Естрадіол, практично, не має вирішального значення в механізмах резорбції та ремоделювання сполучної тканини пародонта.

5. Розлад взаємодії клітин сполучної тканини з тромбоцитами визначає порушення механізмів репаративної регенерації і вихід патологічного процесу на системний рівень. Механізми реалізуються через систему цитокінів, які впливають на активацію проліферативних процесів в сполучній тканині та проявляються зниженням функціональної активності тромбоцитів: найбільш виражені зміни при пародонтиті, найменш – при альвеоліті. При морфологічній верифікації при гінгівіті і альвеоліті при концентрації АДФ

2,5 та 5,0 мкмоль/л виявлені явища тканинного набряку, розширення та повнокрів'я кровоносних судин, що свідчить про порушення регіональної мікроциркуляції. Показано, що індуктор агрегації тромбоцитів АДФ в концентрації 10 мкмоль/л є основним молекулярним посередником зриву природного перебігу репаративної регенерації.

6. Інформативним методом для ранньої діагностики резорбції та ремоделювання сполучної тканини при пародонтиті та гінгівіті є визначення вмісту оксипроліну в добовій сечі. Ці процеси закономірно відображаються у підвищенні рівнів вільного оксипроліну, пептидзв'язаного оксипроліну та білокзв'язаного оксипроліну в сироватці крові в групах щурів з гінгівітом і пародонтитом. Причому в цих групах не спостерігаються значні зміни співвідношення зв'язаного оксипроліну та пептидозв'язаного оксипроліну, що може свідчити про збереження балансу синтезу та розпаду колагену в системі сполучної тканини в цілому. Зміни в осередку запалення носять компенсаторний характер і не виходять за межі фізіологічних можливостей системи. Причому, при підвищенні концентрації зв'язаного оксипроліну та пептидозв'язаного оксипроліну, вміст білокзв'язаного оксипроліну залишається в межах нормальних значень. Різнострамованість змін показників, що відображають синтез та розпад колагену, може свідчити про те, що система сполучної тканини значною мірою бере участь в обмінних процесах.

7. В патогенезі резорбції та ремоделювання тканин пародонта виявлений широкий спектр кисневозалежних механізмів: активація перекисного окиснення ліпідів, зниження антиоксидантного захисту, підвищення вмісту ТБК-реактивних речовин, зниження активності каталази та підвищення концентрації церулоплазміну; підвищення концентрації циркулюючих імунних комплексів, переважно за рахунок найбільш патогенних середньомолекулярних (11 S – 19 S) і дрібномолекулярних (< 11 S) фракцій; зниження загальної кількості та об'єму еритроцитів, зниження концентрації гемоглобіну та зменшення енергетичного метаболізму

аденілової системи мітохондрій, що проявляється у вигляді зниження концентрації аденозиндифосфату на фоні підвищення вмісту АДФ та АМФ. Найбільш виражені зміни спостерігаються при пародонтиті, найменш – при альвеоліті.

8. Моделювання гострих запальних захворювань тканин пародонта призводить до розвитку порушень механізмів регуляції сполучної тканини. Основою цього процесу є дисбаланс у системі цитокінів: відбувається підвищення рівнів адипокінів, спостерігається взаємозв'язок між про- та протизапальними цитокінами (IL-17 та IL-1RA, IL-17 та вісфатином, між рівнями TG β 1 та адипонектину). Встановлено, що регуляція ремоделювання сполучної тканини знаходиться під керуванням сигнального шляху системи ліганду рецептора активатора ядерного фактора кВ (RANKL), рецептора активатора ядерного фактора кВ (RANK) та остеопротегерину (OPG). Додаткову регуляторну ланку складають цитокіни. Збільшення рівня RANKL, що активує резорбцію, супроводжується збільшенням рівнів адипокінів, зокрема адипонектину, який є фактором підвищення резорбції та фактором збільшення рівня RANKL. Має місце позитивна кореляція між RANKL та профібротичним TG β 1, TG β 1 та адипонектином. У групі щурів з гінгівітом при достатньому рівні фізіологічних резервів пошкодження локальне, а на системному рівні – компенсоване. При альвеоліті обмінні процеси в сполучній тканині пародонту активовані зі зміщенням в бік переважання синтезу над розпадом.

9. Клінічне та гістоморфологічне вивчення експериментального матеріалу (пародонтит у кролів та щурів; гінгівіт, альвеоліт у щурів) по-перше, підтвердило запальний характер захворювань пародонта, а по-друге, є доказом того, що в тканинах пародонта постійно відбуваються процеси резорбції та ремоделювання. Про це свідчить одночасна присутність як в м'яких, так і в твердих тканинах пародонту, остеокластів, остеобластів, фібробластів та інших клітин сполучної тканини, які відповідають за резорбцію та ремоделювання неорганічного та органічного кісткового

матриксу.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Біологічним середовищем, яка забезпечує гомеостаз порожнини рота, є слина чи рідина рота. Основною функцією слини є захист цілісності тканин порожнини рота завдяки її антимікробним, протівірусним, очищуючим та імунним властивостям. рН ротової порожнини коливається в межах 6,9-7,2 і дорівнює, в середньому, $7,01 \pm 0,04$. Зсув рН навіть на 0,1 в кислий бік є сигналом значних порушень енергетичного обміну та зв'язаною з ним системи підтримки гомеостазу ротової порожнини, а зниження рН до 6,6 супроводжується інгібуванням активності процесів перекисного окиснення ліпідів. Одержані результати обґрунтовують доцільність використання визначення рН ротової рідини, оскільки оцінка КОС в клініці необхідна для своєчасної діагностики порушень тканинного метаболізму, адекватної корекції їх буферними системами та контролю ефективності фармакотерапії запальних захворювань пародонта.

2. Для ранньої діагностики пародонтиту при захворюваннях тканин пародонту інформативним методом є визначення змісту оксипроліну в добовій сечі. Цей метод, ймовірно, може бути основою для розробки методів лікування з біохімічним контролем його ефективності і прогнозу захворювання. Запропонований метод неінвазивний і поєднує достатню інформативність з доступністю для клініко-діагностичних лабораторій.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список праць, опублікованих за темою дисертації

1. Черемісіна В. Ф. Зміни енергетичного метаболізму мітохондрій при захворюваннях пародонту в експерименті та їх значення в процесах резорбції та ремоделювання. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2017. № 1 (3). С. 42–46.
2. Черемісіна В. Ф. Особливості обміну міді та цинку в периферичній крові щурів із захворюваннями м'яких тканин пародонту. *Світ медицини та біології*. 2017. № 1 (59). С.148–151.
3. Черемисина В. Ф. Роль маркера остеопороза – оксипролина в патогенезе пародонтита и гингивита. *Вісник морської медицини*. 2017. № 1 (74). С. 41–46.
4. Черемісіна В. Ф, Березнякова А. І. Особливості функціонування тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному моделюванні пародонтиту. *Буковинський медичний вісник*. 2017. Том 21, № 4 (84). С. 160–164. (Внесок дисертанта – розробка схеми проведення наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів, оцінка результатів та їх систематизація, підготовка до друку).
5. Berezniakova A. I., Cheremisina V. F. The level of circulatory immune complexes and their molecular content in rates with periodontal diseases. *European International Journal of Science and Technology*. 2017. Vol. 6, № 2. P. 41–45. (Внесок дисертанта – розробка схеми проведення наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів, оцінка результатів та їх систематизація, підготовка до друку).
6. Berezniakova A. I., Cheremisina V. F. Identification of Hormonal Status in Rats' Blood with Diseases of Soft Tissues of Parodontium. *European International Journal of Science and Technology*. 2017. Vol. 6, № 4. P. 1–5. (Внесок

дисертанта – розробка схеми проведення наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів, оцінка результатів та їх систематизація, підготовка до друку).

7. Черемісіна В. Ф. Реакції еритроцитів дорослих щурів при гінгівіті за умов дихальної гіпоксії. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 1. С. 468–477.

8. Черемісіна В. Ф. Роль кальцієво-фосфорного обмену в резорбції м'яких тканин пародонта у крыс. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 4. Р. 903–909.

9. Черемісіна В. Ф., Березнякова А. І. Стан агрегації тромбоцитів і дія інтерлейкінів 4 та 6 при експериментальному альвеоліті. *Світ медицини та біології*. 2017. № 4 (62). С. 165–168. (Внесок дисертанта – розробка схеми проведення наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів, оцінка результатів та їх систематизація, підготовка до друку).

10. Черемісіна В. Ф. Роль остеопротегерину в механізмах розвитку вторинного остеопорозу при моделюванні пародонтиту. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2017. № 4 (50). С. 110–114.

11. Черемісіна В. Ф., Березнякова А. І. Функціональна активність тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному моделюванні гінгівіту та альвеоліту. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2017. Т. XVI, № 4 (62). С. 97–102. (Внесок дисертанта – розробка схеми проведення наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів, оцінка результатів та їх систематизація, підготовка до друку).

12. Berezniakova A. I., Cheremisina V. F. 4 and 6 interleukin's akction in the pathogenesis of periodontitis, gingivitis and dental alveolitis. *Wiadomosci Lekarskie*. 2017. T. LXX, № 5. P.910–913. (Внесок дисертанта – розробка схеми проведення наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів, оцінка результатів та їх систематизація, підготовка до друку).

до друку).

13. Черемісіна В. Ф. Значення остеопротегерину, RANKL, інтерлейкіну-17 в механізмах порушення кісткового метаболізму. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 7. С. 1257–1264.

14. Черемісіна В. Ф. Роль адипокінів в регуляції кісткового ремоделювання при захворюваннях м'яких тканин пародонту. *Буковинський медичний вісник*. 2017. Т. 21, № 2 (82). С. 118–121.

15. Спосіб моделювання альвеоліту у лабораторних тварин (щурів) / В. Ф. Черемісіна, М. І. Гармаш, А. І. Березнякова // пат. 129440 Україна: МПК G09В 23/28. № 201805815; заявл. 24.05.2018; опубл. 25.10.2018, Бюл. № 20. 3 с. (*Внесок дисертанта – проведення інформаційного пошуку, виконання експерименту, проведення аналізу результатів дослідження, участь у підготовці заявки*).

16. Черемісіна В. Ф. Функціональна активність тромбоцитів у щурів при експериментальному моделюванні гінгівіту. *Вісник морської медицини*. 2018. № 1 (78). С. 70–74.

17. Березнякова А. І., Черемісіна В. Ф. Кислотно-основний стан крові та змішаної слини у щурів з захворюваннями пародонту. *Фізіологічний журнал*. 2018. Т. 64, № 1. С. 66-72. (*Внесок дисертанта – розробка схеми проведення наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів, оцінка результатів та їх систематизація, підготовка до друку*).

18. Черемісіна В. Ф. Імуноморфологічні та імуногістохімічні показники сполучної тканини пародонта у щурів при пародонтиті та гінгівіті. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2018. Т. 18, № 2. С. 181–185.

19. Березнякова А. І., Черемісіна В. Ф., Жемела О. Д., Гученко Г. П. Сполучна тканина щурів та її реакція на гостре локальне запалення в різних органах. *Фізіологічний журнал*. 2018, Т. 64, № 2. С. 71–79. (*Внесок дисертанта – розробка схеми проведення наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів, оцінка результатів та їх*

систематизація, підготовка до друку).

20. Cheremisina V. F. The role of connective tissue metabolic processes in the development of pathological processes at inflammation of different intensity in parodontium. *Journal of Education, Health and Sport*. 2018. Vol. 8, № 8. P. 1250–1254.

21. Черемісіна В. Ф. Зміни функціональної активності тромбоцитів у щурів при експериментальному порушенні стану сполучної тканини пародонта. *Запорозький медичинський журнал*. 2018. Т. 20, № 4 (109). С.553–557.

22. Черемісіна В. Ф., Жемела О. Д., Гученко Г. П. Стан вільно-радикальних процесів та системи антиоксидантного захисту сполучної тканини пародонту у кролів при гідрокортизоновому пародонтиті. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2018. Т. 18, № 3 (63). С. 190-193. *(Внесок дисертанта – розробка схеми проведення наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів, оцінка результатів та їх систематизація, підготовка до друку).*

23. Черемісіна В. Ф., Березнякова А. І. Взаємозв'язки рівнів продукції цитокінів у механізмах регуляції процесів ремоделювання кісткової тканини при пародонтиті. *Світ медицини та біології*. 2018. № 2 (64). С. 181–185. *(Внесок дисертанта – розробка схеми проведення наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів, оцінка результатів та їх систематизація, підготовка до друку).*

24. Cheremisina V.F., Berezniakova A.I. Erythrocytes and their vaiue in pathogenesis of parodontium inflammatory diseases. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9, № 4. P. 611-617. *(Внесок дисертанта – розробка схеми наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів та їх систематизація).*

25. Черемісіна В. Ф. Порушення кислотно-лужного балансу при захворюваннях пародонту. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : міжнар. наук.-практ. конф. (Харків, 30-31

берез. 2017). Харків. С. 354.

26. Черемисина В. Ф. Иммуногенетические механизмы патогенеза воспалительных заболеваний мягких тканей пародонта. *Роль молодежи в развитии медицинской науки* : научно-практ. конф. молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с междун. участием посвященной «Году молодежи». (Душанбе, 28 апреля 2017). Душанбе. С.358.

27. Черемисина В. Ф. Стан метаболітів сполучної тканини при захворюваннях м'яких тканин пародонта. *Інновації в медицині: досягнення молодих вчених* : 40-ва ювілейна наук.-практ. конф. молодих вчених НМАПО імені П.Л.Шупика з міжнар. участю, присвяченої дню науки (Київ, 18 травня 2017). Київ. С. 120.

28. Черемисина В. Ф. Цитокины и их участие в ремоделировании костной ткани пародонта. *Бюллетень XVI чтений им. В. В. Подвысоцкого*. (Одеса, 18-19 травня 2017). Одеса. С. 371–372.

29. Черемисина В. Ф. Взаємозв'язки між рівнем інтерлейкінів та функціональною активністю тромбоцитів при захворюваннях м'яких тканин пародонта. Здобутки клінічної та експериментальної медицини : LX наук.-практ. конф., присвячена 60-річчю ТДМУ. (Тернопіль, 14 червня 2017). Тернопіль. С. 374–375.

30. Черемисина В. Ф. Гістологічне дослідження м'яких тканин пародонта при експериментальному гінгівіті. *Інновації в медицині* : 87 науково-практ. конф. студентів та молодих вчених із міжнар. участю. (Івано-Франківськ, 22-23 берез. 2018). Івано-Франківськ. С. 114.

31. Черемисина В. Ф. Порівняльна характеристика активності процесів прооксидантної та антиоксидантної систем у крові та тканинах пародонта. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : II Міжнар. наук.-практ. конф. (Харків, 28-29 берез. 2018). Харків. С. 312.

32. Черемисина В. Ф. Воспаление – основной патологический процесс при заболеваниях пародонта. *Система повышения квалификации педагогических*

кадров в ВУЗах Узбекистана: опыт, приоритеты и перспективы развития : научно-практ. конф. (Ташкент, 18 апреля 2018). Ташкент. С. 239.

33. Черемісіна В. Ф. Пошук адекватних моделей для моделювання захворювань пародонту у людини. *XXII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених*. (Тернопіль, 23-25 квітня 2018). Тернопіль. С. 85.

34. Черемісіна В. Ф. Біохімічні зміни сполучної тканини при патологічних процесах. *Бюлетень XVI чтений им. В.В.Подвысоцкого* (Одеса, 24-25 травня 2018). Одеса. С. 160–162.

35. Черемісіна В. Ф., Березнякова А. І. Оксипролін – основний маркер обмінних процесів в сполучній тканині. *Актуальні питання морфогенезу та ремоделювання тканин і органів у нормі та патології* : наук.-практ. конф. з міжнар. участю (Тернопіль, 20-21 вересня 2018). Тернопіль. С. 160-162.

36. Черемісіна В. Ф. Деякі гематологічні показники при експериментальному гідрокортизоновому пародонтиті у кролів. *Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики* : VII Пленум Українського наукового товариства патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячених 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н.Зайка. (Полтава, 11-12 жовтня 2018). Полтава. С.123–124.

37. Черемісіна В. Ф. Вплив гормонального гомеостазу у щурів при запальних захворюваннях пародонту на процеси резорбції та ремоделювання. *Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики* : VII Пленум Українського наукового товариства патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячених 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н.Зайка. (Полтава, 11-12 жовтня 2018). Полтава. С. 122.

38. Черемісіна В.Ф. Цитокінові механізми при запальних захворюваннях пародонту, які змінюють ремоделювання сполучної тканини. *Бюлетень XVI чтань им. В.В.Підвисоцького* (Одеса, 21-22 травня 2019). Одеса. С. 186–187.

39. Черемісіна В.Ф. Запальний процес в пародонтиті: місцевий або генералізований процес організму? *Науково-практична конференція з міжнародною участю Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми»*. (Івано-Франковськ, 19-20 вересня 2019). Івано-Франковськ. С.67-68.

40. Черемісіна В.Ф., Березнякова А.І. Кисневозалежні механізми в патогенезі запальних захворювань пародонту. *Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку»*, присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України. (Харків, 20 вересня 2019). Харків С. 219-221.

Додаток Б

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на:

1. I Міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 30-31 березня 2017). *(Форма участі – публікація тез)*.
2. 40-вій ювілейній науково-практичній конференції молодих вчених НМАПО імені П.Л.Шупика з міжнародною участю, присвяченій дню науки «Інновації в медицині: досягнення молодих вчених» (Київ, 18 травня 2017). *(Форма участі – публікація тез)*.
3. XVI читаннях ім. В.В.Підвисоцького (Одеса, 18-19 травня 2017). *(Форма участі – публікація тез)*.
4. Научно-практической конференции молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибн Сино с международным участием посвященной «Году молодежи»: «Роль молодежи в развитии медицинской науки» (Душанбе, 28 квітня 2017). *(Форма участі – публікація тез)*.
5. Підсумковій LX науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (присвяченій 60-річчю ТДМУ). (Тернопіль, 14 червня 2017). *(Форма участі – публікація тез)*.
6. Научно-практической конференции «Система повышения квалификации педагогических кадров в ВУЗах Узбекистана: опыт, приоритеты и перспективы развития» (Ташкент, 18 квітня 2018). *(Форма участі – публікація тез)*.
7. XVII читаннях ім. В.В.Підвисоцького (Одеса, 24-25 травня 2018). *(Форма участі – публікація тез)*.
8. VII Пленумі Українського наукового товариства патофізіологів та науково-практичній конференції, присвячених 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н.Зайка «Інтегративні

механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики» (Полтава, 11-12 жовтня 2018). *(Форма участі – публікація тез)*.

9. XXII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 23-25 квітня 2018). *(Форма участі – публікація тез)*.

10. 87 науково-практичній конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 22-23 березня 2018). *(Форма участі – публікація тез)*.

11. II Міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 28-29 березня 2018). *(Форма участі – публікація тез)*.

12. Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання морфогенезу та ремоделювання тканин і органів у нормі та патології» (Тернопіль, 20-21 вересня 2018). *(Форма участі – публікація тез)*.

13. XVIII читання ім. В. В. Підвисоцького. (Одеса, 21-22 травня 2019). *(Форма участі – публікація тез)*.

14. Науково-практичній конференції з міжнародною участю Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми» (Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019). *(Форма участі – публікація тез)*.

15. Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку», присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (Харків, 20 вересня 2019). *(Форма участі – публікація тез)*.

Додаток В

Акти впровадження матеріалів наукових досліджень



Бобирьов В.М.

2017 р.

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Механізми резорбції та ремоделювання сполучної (кісткової) тканини у щурів при захворюваннях пародонта.
2. **Установа-розробник:** Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12.
3. **Автори:** здобувач кафедри патологічної фізіології НФаУ Черемісіна Валентина Федорівна.
4. **Джерела інформації:**
 1. Березнякова А. И. Уровень циркулирующих иммунных комплексов и их молекулярный состав у крыс с болезнями пародонта / А. И. Березнякова, В. Ф. Черемисина //European International Journal of Science and Technology.-2017. – Vol.6. – No.2. – P. 41-45.
 2. Черемісіна В.Ф. Реакції еритроцитів дорослих щурів при гінгівіті за умов дихальної гіпоксії / В.Ф.Черемісіна //Journal of Education, Health and Sport. – 2017. – Vol. 7 - № 1. – P. 468-477.
 3. Черемісіна В.Ф. Особливості обміну міді та цинку в периферичній крові щурів із захворюваннями м'яких тканин пародонту/ В.Ф.Черемісіна //Світ медицини та біології – 2017 – Вип. 1 (59). – С. 148-151.
 4. Черемісіна В.Ф. Роль маркера остеопороза – оксипролина в патогенезі пародонтита и гингивита / В.Ф.Черемісіна // Вісник морської медицини – 2017 – Вип.1(74) – С. 41-45.
 5. Черемісіна В.Ф. Зміни енергетичного метаболізму мітохондрій при захворюваннях пародонту в експерименті та їх значення в процесах резорбції та ремоделювання/ В.Ф.Черемісіна // Український журнал медицини, біології та спорту. - 2017 – Вип.1(3) – С.42-44.
5. **Де впроваджено:** на кафедрі патофізіології Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» при читанні лекцій та проведенні практичних занять на теми: "Патофізіологія травлення".
6. **Термін впровадження:** лютий-травень 2017 р. Обговорено на засіданні кафедри 29.08.2017 р., протокол № 1.
7. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри патофізіології,
Вищого державного навчального закладу
України «Українська медична стоматологічна
академія», професор, д. мед. н.

В.О. Костенко



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор Одеського національного медичного
університету МОЗ України
Академік НАМН України
професор

Запорожан В.М.

« 30 серпня » 2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва пропозиції для впровадження: Механізми резорбції та ремоделювання сполучної (кісткової) тканини у щурів при захворюваннях пародонта

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12, здобувач кафедри патологічної фізіології НФаУ Черемісіна Валентина Федорівна.

Джерела інформації:

1. Березнякова А.И. Уровень циркулирующих иммунных комплексов и их молекулярный состав у крыс с болезнями пародонта / А.И. Березнякова, В.Ф. Черемисина // European International Journal of Science and Technology.-2017. – Vol. 6, N 2. – P. 41-45.

2. Черемісіна В.Ф. Реакції еритроцитів дорослих щурів при гінгівіті за умов дихальної гіпоксії / В.Ф.Черемісіна //Journal of Education, Health and Sport. – 2017. – Vol. 7, N 1. – P. 468-477.

3. Черемісіна В.Ф. Особливості обміну міді та цинку в периферичній крові щурів із захворюваннями м'яких тканин пародонту/ В.Ф.Черемісіна // Світ медицини та біології – 2017 – Вип. 1 (59). – С. 148-151.

4. Черемісіна В.Ф. Роль маркера остеопороза – оксипролина в патогенезі пародонтита і гінгівіта / В.Ф.Черемісіна // Вісник морської медицини. – 2017 – Вип. 1 (74). – С. 41-45.

5. Черемісіна В.Ф. Зміни енергетичного метаболізму мітохондрій при захворюваннях пародонту в експерименті та їх значення в процесах резорбції та ремоделювання / В.Ф.Черемісіна // Український журнал медицини, біології та спорту. - 2017 – Вип.1(3). – С.42-44.

Базова установа, яка проводить впровадження: Одеський державний медичний університет МОЗ України, кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології

Форма впровадження: в навчальний процес – у матеріали лекцій і практичних занять.

Термін впровадження: 2016-2017 навчальний рік.

Зауваження і пропозиції: не вносились. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології, протокол № 1 від 30 серпня 2017 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедрою загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України д.мед.н., професор

 Р.С.Вастьянов



“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи
Запорізького державного
медичного університету
проф. В.О. Гуманський

_____ 2017.


АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Механізми резорбції та ремоделювання сполучної (кісткової) тканини у щурів при захворюваннях пародонта.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Національний фармацевтичний університет, доцент кафедри технології парфумерно-косметичних НФаУ Черемісіна В.Ф.
3. **Джерела інформації:**
 - Березнякова А. И. Уровень циркулирующих иммунных комплексов и их молекулярный состав у крыс с болезнями пародонта / А. И. Березнякова, В. Ф. Черемисина //European International Journal of Science and Technology.-2017. – Vol.6. – No.2. – P. 41-45.
 - Черемісіна В.Ф. Реакції еритроцитів дорослих щурів при гінгівіті за умов дихальної гіпоксії / В.Ф.Черемісіна //Journal of Education, Health and Sport. – 2017. – Vol. 7 - № 1. – P. 468-477.
 - Черемісіна В.Ф. Особливості обміну міді та цинку в периферичній крові щурів із захворюваннями м'яких тканин пародонту/ В.Ф.Черемісіна // віт медицини та біології – 2017 – Вип. I (59). – С. 148-151.
 - Черемісіна В.Ф. Роль маркера остеопороза – оксипролина в патогенезе пародонтита и гингивита / В.Ф.Черемісіна // Вісник морської медицини – 2017 – Вип.1(74) – С. 41-45.
 - Черемісіна В.Ф. Зміни енергетичного метаболізму мітохондрій при захворюваннях пародонту в експерименті та їх значення в процесах резорбції та ремоделювання/ В.Ф.Черемісіна // Український журнал медицини, біології та спорту. - 2017 – Вип.1(3) – С.42-44.
4. **Впроваджено:** Запорізький державний медичний університет, кафедра патологічної фізіології (протокол №3 від 12.10.2017 р.).
5. **Включено:** У лекційний курс і практичні заняття за темою «Запалення» для студентів спеціальності «Стоматологія»
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Черемісіної В.Ф. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про патогенетичні особливості реакції сполучної тканини при захворюваннях пародонта.
7. **Термін впровадження:** вересень 2017– жовтень 2017.
8. **Зауваження та пропозиції:** Не виносилися.

Відповідальний за впровадження
професор кафедри патологічної фізіології
Запорізького державного
медичного університету
доктор медичних наук, професор

ПІДТВЕРДЖУЮ
Нач. відділу кадрів Запорізького
державного медичного університету
* * * 20 * * р. Підпис



“ЗАТВЕРДЖУЮ”
 Проректор з науково-педагогічної роботи
 Вищого державного навчального
 закладу України “Буковинський
 державний медичний університет”
 доцент *Геруш І.В.*
 2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів дисертаційної роботи Черемісіної Валентини Федорівни за темою:
 «Механізми резорбції та ремоделювання сполучної (кісткової) тканини
 у щурів при захворюваннях пародонта»

Назва пропозиції для впровадження: з'ясувати механізми резорбції та
 ремоделювання сполучної (кісткової) тканини при захворюваннях пародонта.

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний
 університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12

Джерела інформації:

1. Березнякова А. И. Уровень циркулирующих иммунных комплексов и их молекулярный состав у крыс с болезнями пародонта / А. И. Березнякова, В. Ф. Черемисина // European International Journal of Science and Technology. - 2017. - Vol.6. - No.2. - P. 41-45.
2. Черемісіна В.Ф. Реакції еритроцитів дорослих щурів при гінгівіті за умов дихальної гіпоксії / В.Ф.Черемісіна // Journal of Education, Health and Sport. - 2017. - Vol. 7 - № 1. - P. 468-477.
3. Черемісіна В.Ф. Особливості обміну міді та цинку в периферичній крові щурів із захворюваннями м'яких тканин пародонту/ В.Ф.Черемісіна // Світ медицини та біології – 2017 – Вип. 1 (59). – С. 148-151.
4. Черемісіна В.Ф. Роль маркера остеопороза – оксипролина в патогенезі пародонтита і гінгівіта / В.Ф.Черемісіна // Вісник морської медицини – 2017 – Вип.1(74) – С. 41-45.
5. Черемісіна В.Ф. Зміни енергетичного метаболізму мітохондрій при захворюваннях пародонту в експерименті та їх значення в процесах резорбції та ремоделювання/ В.Ф.Черемісіна // Український журнал медицини, біології та спорту. - 2017 – Вип.1(3) – С.42-44.

Де і коли впроваджено: у науково-педагогічний процес кафедри

Терміни впровадження: 2016 – 2017 навчальний рік

Результати впровадження: застосування результатів наукових досліджень Черемісіної Валентини Федорівни до зволяє розширити уявлення про механізми резорбції та ремоделювання сполучної (кісткової) тканини при захворюваннях пародонта.

Зауваження та пропозиції: Не висловлено.

Відповідальний за впровадження:
 зав. кафедри патологічної фізіології,
 д.мед.н., професор


 Роговий Ю.С.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
Івано-Франківського національного
медичного університету
д.біол.н., проф. Ерстенюк Г.М.




2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Механізми резорбції та ремоделювання сполучної (кісткової) тканини у щурів при захворюваннях пародонта.
2. **Установа-розробник, її адреса, виконавці:** Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12, здобувач Черемісіна В. Ф.
Джерело інформації:
 1. Березнякова А. И. Уровень циркулирующих иммунных комплексов и их молекулярный состав у крыс с болезнями пародонта / А. И. Березнякова, В. Ф. Черемісіна //European International Journal of Science and Technology.- 2017. – Vol.6. – No.2. – Р. 41-45.
 2. Черемісіна В.Ф. Реакції еритроцитів дорослих щурів при гінгівіті за умов дихальної гіпоксії / В.Ф.Черемісіна //Journal of Education, Health and Sport. – 2017. – Vol. 7 - № 1. – Р. 468-477.
 3. Черемісіна В.Ф. Особливості обміну міді та цинку в периферичній крові щурів із захворюваннями м'яких тканин пародонту/ В.Ф.Черемісіна //Світ медицини та біології – 2017 – Вип. 1 (59). – С. 148-151.
 4. Черемісіна В.Ф. Роль маркера остеопороза – оксипролина в патогенезі пародонтиту та гінгівіта / В.Ф.Черемісіна // Вісник морської медицини – 2017 – Вип.1(74) – С. 41-45.
3. **Базова установа, яка проводить впровадження** Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра патологічної фізіології.
4. **Термін впровадження:** вересень-грудень 2017 р.
5. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми: «Патофізіологія травлення у ротовій порожнині. Порушення слиновиділення. Карієс. Пародонтит».
6. **Зауваження та пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології,
Івано-Франківського національного медичного
університету, доктор медичних наук, професор

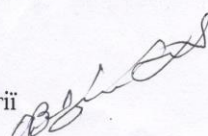
 Л.М.Заяць



Акт впровадження

- 1. Тема докторської дисертації:** Механізми резорбції та ремоделювання сполучної (кісткової) тканини у щурів при захворюваннях пародонта.
- 2. Установа-розробник:** Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12.
- 3. Автори:** здобувач кафедри патологічної фізіології НФаУ Черемісіна Валентина Федорівна.
- 4. Джерело інформації:**
1. Березнякова А. И. Уровень циркулирующих иммунных комплексов и их молекулярный состав у крыс с болезнями пародонта / А. И. Березнякова, В. Ф. Черемисина //European International Journal of Science and Technology.-2017. – Vol.6. – No.2. – P. 41-45.
 2. Черемісіна В.Ф. Реакції еритроцитів дорослих щурів при гінгівіті за умов дихальної гіпоксії / В.Ф.Черемісіна //Journal of Education, Health and Sport. – 2017. – Vol. 7 - № 1. – P. 468-477.
 3. Черемісіна В.Ф. Особливості обміну міді та цинку в периферичній крові щурів із захворюваннями м'яких тканин пародонту/ В.Ф.Черемісіна //Світ медицини та біології – 2017 – Вип. 1 (59). – С. 148-151.
 4. Черемісіна В.Ф. Роль маркера остеопороза – оксипролина в патогенезі пародонтита і гінгівіта / В.Ф.Черемісіна // Вісник морської медицини – 2017 – Вип.1(74) – С. 41-45.
 5. Черемісіна В.Ф. Зміни енергетичного метаболізму мітохондрій при захворюваннях пародонту в експерименті та їх значення в процесах резорбції та ремоделювання/ В.Ф.Черемісіна // Український журнал медицини, біології та спорту. - 2017 – Вип.1(3) – С.42-44.
- Де впроваджено:** впроваджено в навчальний процес кафедри патологічної фізіології ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» при проведенні практичних занять і лекцій для студентів стоматологічного факультету на тему "патогенез захворювань пародонта", "Гіпоксії".
- 5. Термін впровадження:** з 01.2017 по 06.2017.
- 6. Короткий зміст основних положень, які внесені в лекційний курс та практичні заняття:** Хронічна гіперглікемія в щурів із діабетом призводить до формування глибокого гіпоксичного стану в полях гіпокампа CA1 та CA4, що підтверджується багатократним зростанням у цих полях показників активності транскрипційного фактора Hif-1 α .
- 7. Ефективність впровадження:** поглиблення знань про патогенез захворювань пародонта та роль гіпоксії в їх перебігу.
- 8. Зауваження та пропозиції:** Зауваження не вносилися. Запропоновано для використання в навчальному процесі кафедр патологічної фізіології, стоматології.

Відповідальний за впровадження:
Професор кафедри патологічної фізіології


В.Ф.Мислицький

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з науково-педагогічної роботи
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний
університет ім. І.Я.Горбачевського МОЗ України»
д.мед.н., проф. А.Г.Шульгай

“ 6 ”

2017 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Найменування пропозиції для впровадження: Механізми резорбції та ремоделювання сполучної (кісткової) тканини у щурів при захворюваннях пародонта.

Ким запропоновано, адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12, Черемісіна Валентина Федорівна.

Джерела інформації: 1. Березнякова А. И. Уровень циркулирующих иммунных комплексов и их молекулярный состав у крыс с болезнями пародонта / А. И. Березнякова, В. Ф. Черемисина //European International Journal of Science and Technology.-2017. – Vol.6. – No.2. – P. 41-45.

2. Черемісіна В.Ф. Реакції еритроцитів дорослих щурів при гінгівіті за умов дихальної гіпоксії / В.Ф.Черемісіна //Journal of Education, Health and Sport. – 2017. – Vol. 7 - № 1. – P. 468-477.

3. Черемісіна В.Ф. Особливості обміну міді та цинку в периферичній крові щурів із захворюваннями м'яких тканин пародонту/ В.Ф.Черемісіна //Світ медицини та біології – 2017 – Вип. 1 (59). – С. 148-151.

4. Черемісіна В.Ф. Роль маркера остеопороза – оксипролина в патогенезе пародонтита і гінгівіта / В.Ф.Черемісіна // Вісник морської медицини – 2017 – Вип.1(74) – С. 41-45.

5. Черемісіна В.Ф. Зміни енергетичного метаболізму мітохондрій при захворюваннях пародонту в експерименті та їх значення в процесах резорбції та ремоделювання/ В.Ф.Черемісіна // Український журнал медицини, біології та спорту. - 2017 – Вип.1(3) – С.42-44.

Де впроваджено: на кафедрі патологічної фізіології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я.Горбачевського МОЗ України» при читанні лекцій та проведенні практичних занять на теми: "Запалення", «Патологічна фізіологія травлення».

Термін впровадження: 2017 р.

Короткий зміст основних положень, які внесені в лекційний курс та практичні заняття: механізми розвитку запальних процесів тканин пародонтального комплексу та їх профілактика.

Зауваження і пропозиції: Не вносилися.

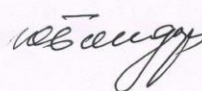
Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри патологічної фізіології

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний

університет ім. І.Я.Горбачевського

МОЗ України», д. мед. н., професор



Ю.І. Бондаренко



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи,
Федосов А.І.

(Handwritten signature)

2018р.

Акт впровадження

1. Пропозиція для впровадження: Патогенетичні особливості резорбції та ремоделювання сполучної тканини у щурів при запальних захворюваннях пародонту (експериментальне дослідження).

2. Установа-розробник: Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куліковська, 12.

3. Автори: доцент кафедри КіА, здобувач кафедри патологічної фізіології НФаУ Черемісіна Валентина Федорівна.

4. Джерело інформації:

1. Березнякова А.І. Уровень циркулюючих імунних комплексів і їх молекулярний склад у крыс з захворюваннями пародонта / А.І.Березнякова, В.Ф.Черемісіна //European International Journal of Science and Technology.- 2017. – Vol.6. – No.2. – P. 41-45.
2. Черемісіна В.Ф. Реакції еритроцитів дорослих щурів при гінгівіті за умов дихальної гіпоксії / В.Ф.Черемісіна //Journal of Education, Health and Sport. – 2017. – Vol. 7 - № 1. – P. 468-477.
3. Черемісіна В.Ф. Особливості обміну міді та цинку в периферичній крові щурів із захворюваннями м'яких тканин пародонту/ В.Ф.Черемісіна //Світ медицини та біології – 2017 – Вип.1(59). – С. 148-151.
4. Черемісіна В.Ф. Роль маркера остеопороза – оксипроліна в патогенезі пародонтита і гінгівіта / В.Ф.Черемісіна // Вісник морської медицини – 2017 – Вип.1(74) – С. 41-45.
5. Зміни енергетичного метаболізму мітохондрій при захворюваннях пародонту в експерименті та їх значення в процесах резорбції та ремоделювання. // Український журнал медицини, біології та спорту. - 2017 – Вип.1(13) – С. 42-46.

5. Базова установа, яка проводить впровадження: Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології.

6. Термін впровадження: 2018р.

7. Форма впровадження: в лекційний курс і практичні заняття за темою: «Гіпоксія та захворювання сполучної тканини».

8. Зауваження та пропозиції: не вносились.

Відповідальний за впровадження:

д. мед. н., доцент кафедри патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету *(Handwritten signature)* Гнатюк В.В.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор, Чорноморського
національного університету імені Петра
Могили МОН України

к. е. н., доцент Н.М. Іщенко

« 3 » 2018 р.

Акт впровадження

1. **Пропозиція для впровадження:** Механізми резорбції та ремоделювання сполучної (кісткової) тканини у щурів при захворюваннях пародонта.
2. **Установа-розробник:** Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликовська, 12.
3. **Автори:** доцент кафедри КіА, здобувач кафедри патологічної фізіології НФаУ Черемісіна Валентина Федорівна.
4. **Джерело інформації:**
 1. Березнякова А.И. Уровень циркулирующих иммунных комплексов и их молекулярный состав у крыс с болезнями пародонта / А.И. Березнякова, В.Ф. Черемісіна // European International Journal of Science and Technology. – 2017. – Vol. 6, N 2. – P. 41-45.
 2. Черемісіна В.Ф. Реакції еритроцитів дорослих щурів при гінгівіті за умов дихальної гіпоксії / В.Ф. Черемісіна // Journal of Education, Health and Sport. – 2017. – Vol. 7, N 1. – P. 468-477.
 3. Черемісіна В.Ф. Особливості обміну міді та цинку в периферичній крові щурів із захворюваннями м'яких тканин пародонту / В.Ф. Черемісіна // Світ медицини та біології – 2017. – Вип.1 (59). – С. 148-151.
 4. Черемісіна В.Ф. Роль маркера остеопороза – оксипролина в патогенезі пародонтита і гінгівіта / В.Ф. Черемісіна // Вісник морської медицини. – 2017. – Вип. 1 (74). – С. 41-45.
 5. Черемісіна В.Ф. Зміни енергетичного метаболізму мітохондрій при захворюваннях пародонту в експерименті та їх значення в процесах резорбції та ремоделювання / В.Ф. Черемісіна // Український журнал медицини, біології та спорту. – 2017. – Вип. 1 (13). – С. 42-46.
5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Чорноморський національний університет ім. Петра Могили, кафедра патофізіології.
6. **Термін впровадження:** 2018 р.
7. **Форма впровадження:** в лекційний курс і практичні заняття за темою: «Запалення».
8. **Зауваження та пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження:

професор кафедри патофізіології,
д. мед. н., проф.

 Климченко М.О.