

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

ЧЕРЕМІСІНА Валентина Федорівна

УДК 576.54+577.29]:616.71-007.234-0.92

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

14.03.04 – патологічна фізіологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Суми– 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Національному фармацевтичному університеті МОЗ України, м. Харків.

Науковий консультант: доктор медичних наук, професор, заслужений професор НФаУ, заслужений діяч науки і техніки України,

Березнякова Алла Іллівна,

Національний фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків), професор кафедри
патологічної фізіології.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор, член-кореспондент НАН України, академік НАМН України, Заслужений діяч науки і техніки України **Резніков Олександр Григорович**, Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» (м. Київ), завідувач відділу ендокринології репродукції та адаптації;

доктор медичних наук, професор

Клименко Микола Олексійович

Чорноморський національний університет ім. Петра Могили
МОН України (м. Миколаїв), проректор з науково-педагогічної роботи та питань розвитку,
професор кафедри медичної біології та хімії, біохімії,
мікробіології, фізіології, патофізіології та фармакології;

доктор медичних наук, професор

Шевченко Олександр Миколайович

Харківський національний медичний університет (м. Харків),
професор кафедри патологічної фізіології імені
Д.О. Альперна.

Захист дисертації відбудеться «27» листопада 2020 р. об 11.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 Сумського державного університету МОН України за адресою: 40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Сумського державного університету МОН України за адресою: 40007, м. Суми, вул. Римського-Кораківа, 2.

Автореферат розісланий «24» жовтня 2020 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради

к.мед.н., доцент



Погорелова О.С.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Інтерес до сполучної тканини (СТ) на сьогодні суттєво виріс, про що свідчить ріст числа публікацій, що тим чи іншим чином стосуються її стану (Московський А.В. та співавт., 2020), ролі в розвитку та протіканні багатьох захворювань. Об'єктом підвищеної уваги дослідників стає аналіз взаємодії фізіологічних систем за умов патології (Елинская А.Н. та співавт., 2020). Так, вивчається проблема загальних патогенетичних механізмів серцево-судинних захворювань та порушень в кістковій тканині (Орехова Л. Ю. та співавт., 2009; Горшунова Н. К. та співавт., 2015; Єсипова А. А., Вілова Т. В., 2016; Ткачук С. С. та співавт., 2018 Chopra R., Patil S. R., 2012; Ford M. L. et al., 2016). З'явилися дослідження з вивчення особливостей коморбідного протікання атеросклерозу та інволюційного остеопорозу [Chamorro A., 2014]. Відоме обтяження прогнозу ішемічної хвороби серця, завдяки гіперкоагуляційним зсувам (Al-Rasheed A., 2012; Шехтман А. Г. та співавт., 2014; Доманова Є. Т. та співавт., 2017; Pupin T.I. et al., 2020). Встановлений зв'язок стресу (Гожая Л. Д., 2012; Горохівський В. Н. та співавт., 2017) і порушення кисневого режиму пародонта при тривалій іммобілізації (Маньковська І. М. та співавт., 2018), зв'язок захворювань пародонта і цукрового діабету (Левицький А. П. та співавт., 2013; Anwar N. et al., 2016; CorlanPuscu D., 2016; Saito M. et al., 2016; Баліцька О. Ю., 2018; Ганчев К. С. та співавт., 2018), значення оклюзійної травми та ураження великих суглобів в патогенезі захворювань пародонта (Янушевич О. О. та співавт., 2012; Осіпова Ю. Л. та співавт., 2015). Вивчені деякі механізми участі фізіологічної системи СТ у різноманітних видах дисплазій: вплив мікроелементів на формування патологічних процесів пародонта (Павлов С. Б., 2016; Літовка І. Г. та співавт., 2018; Пахолук Ю.П. та співавт., 2020).

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 (Регада М. С. та співавт., 2018), запаленні та загоєнні ран тощо. Відповідно, СТ відіграє значну роль у патогенезі хвороб (Ильин В.К. та співавт., 2020). Однак, робіт з вивчення резорбції та ремоделювання СТ пародонта ми, в доступній нам літературі, не знайшли.

Поряд з тим, запальні захворювання тканин пародонта становлять собою одну із найбільш складних проблем сучасної патофізіології та стоматології. Значна розповсюдженість, великий відсоток втрати зубів у пацієнтів (Гудянов А. І. та співавт., 2010), шкідливий вплив осередків пародонтальної інфекції на організм (Пупін М. Т., 2013; Тимчук І. В. та співавт., 2014) – все це визначає як медичну, так і соціальну значущість цієї проблеми. За даними ВООЗ більше 82 % населення страждають на запальні захворювання тканин пародонта (Нечаєва Г. І. та співавт., 2016; Романовська І. І. та співавт., 2016; Ceciliani F. et al., 2016).

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 дослідженнями 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 спрямована на слинні залози, переважно, дрібні, що, в цілому, запускає патологічний процес. При гінгівіті агресія спрямована, в основному, на кровоносні судини.

Вперше вивченням макро- та мікроскопічного матеріалу підтверджено запальний характер захворювань тканин пародонта та участь клітин СТ (остеобластів, остеокластів, фібробластів та ін.) в механізмах резорбції та ремоделювання як м'яких, так і твердих тканин пародонта. Вперше показаний механізм впливу тромбоцитарного компоненту системи гемостазу на активацію проліферативних процесів в СТ пародонта при пародонтиті, гінгівіті та альвеоліті. Виявлені нові патогенетичні механізми порушення стану кісткової тканини пародонта, пов'язані зі зниженням функціональної активності тромбоцитів при участі різних концентрацій індуктора агрегації (АДФ: 2,5, 5 та 10 мкмоль/л). Показано, що індуктор агрегації в концентрації 10 мкмоль/л є основним молекулярним посередником зриву природного перебігу репаративної регенерації. Вперше показана роль механізмів регуляції резорбції та ремоделювання СТ пародонта цитокінами. Визначено внесок дисбалансу міжклітинних медіаторів у розвиток системної відповіді СТ на пошкодження.

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 та мають велике значення для розуміння сутності метаболічних процесів. Вперше показано, що значні зсуви кальцій-фосфорного обміну спостерігаються у щурів з пародонтитом. Мідь є необхідним матеріалом як в фазі резорбції, так і в фазі ремоделювання СТ пародонта при запальних захворюваннях. Гіпокупремія та гіпоцинкемія практично не обтяжують резорбцію кісткової тканини при альвеоліті та гінгівіті, а при пародонтиті гіпокупремія може гальмувати проліферацію клітин СТ та прискорювати процес їх дозрівання. 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 встановлено, що в патогенезі резорбції та ремоделювання тканин пародонта має значення широкий спектр кисневозалежних механізмів: активація ПОЛ, зниження антиоксидантного захисту, підвищення вмісту ТБК-реактивних, 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 АТФ на фоні підвищення АДФ та АМФ. Найбільш виражені зміни – при пародонтиті, найменш –

при альвеоліті.

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. Показано, що основою цього процесу є дисбаланс у системі цитокінів – IL-1RA, IL-17 та вісфатину, між рівнями TGF- β 1 та адипонектином. Активація регуляторного шляху RANK-RANKL-OPG у щурів при пародонтиті, що свідчить про залучення механізмів регулювання на рівні системи СТ організму в цілому.

Практичне значення одержаних результатів. Значущість роботи визначається отриманням нових знань про патогенетичні особливості резорбції та ремоделювання системи 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 медичних та біологічних наук, у науково-дослідній роботі, а також для розробки способів діагностики та лікування запальних захворювань пародонта, та відкривають 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 ім. В. В. Підвисоцького Одеського державного медичного університету, м. Одеса; Чорноморського національного університету ім. Петра Могили, м. Миколаїв; ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського» МОЗ України, м. Тернопіль.

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: І 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); 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, 2017); LX науково-практичній конференції, присвяченій 60-річчю ТДМУ «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 2017); научно-практической конференции «Система повышения квалификации педагогических кадров 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). XVIII читаннях 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», присвяченій 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (Харків, 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, опису 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.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Експериментальні дослідження виконані на 250 білих нелінійних щурах (240 самців та 10 самиць) 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 дослідів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), Гельсінської декларацією, прийнятою Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964-2000 рр.), Статутом 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 № 10 від 18.10.2017 р.).

Всі больові маніпуляції були проведені під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг внутрішньоочеревинно) (Резніков О. Г., Соловйов А. І., Стефанов О. В., 2006).

Основні дослідження проведено в Центральній науково-дослідній лабораторії НФаУ, яка має свідоцтво про атестацію вимірювальної техніки, 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.).

Експериментальні моделі

Скипидарне запалення у щурів 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 (Дроговоз С. М. та співав., 2006).

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 (Alpdogan Kantaci, Naticice Hasturk, Van Dyke T. E., 2000). Тварин оглядали щоденно, звертаючи увагу на загальну рухливість, апетит, масу тіла, виділення із носу, слинотечу, рухливість нижніх та верхніх різців.

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 (2006).

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 бджолиної отрути (1 мг/кг в дозі 2 мл) за методом Левицького А. П. (2010).

Альвеоліт моделювали за розробленим нами при виконанні дисертації методом, на який отримано патент України на корисну модель «Спосіб моделювання альвеоліту у лабораторних тварин (щурів) № 129440.

Експериментальні методики

Про стан системи ПОЛ та АОС судили за концентрацією МДА, активністю церулоплазміну, каталази в сироватці крові і гомогенаті альвеолярного відростку нижньої щелепи шурів та антиоксидантно-прооксидантним індексом (АПІ), який розраховували як відношення активності каталази до концентрації МДА (1973).

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

Концентрацію МДА визначали за ТБК-методом (Стальная І. Д., Гарішвілі Т. Г., 1977). Принцип методу полягає в утворенні забарвленого комплексу при взаємодії малонового діальдегіду з тіобарбітуровою кислотою.

Рівень церулоплазміну в сироватці крові досліджували за методом Равіна з використанням у якості субстрату парафенілендіаміну (Кишкун О. О., 2009). Принцип методу базується на окисленні парафенілендіаміну за участю церулоплазміну. Ферментативна реакція припиняється додаванням фториду натрію. За оптичною щільністю продуктів, що утворилися, судили про рівень церулоплазміну.

Активність каталази встановлювали за методом Гіріна С. В. (1999) за зменшенням вмісту перекису водню в інкубаційному середовищі, оскільки каталаза розщеплює перекис водню.

Кислотно-лужний стан крові вивчали мікрометодом Аструпа з використанням номограм Зиггарда-Андерсена (1956). Показники кислотно-лужного стану крові визначали на апараті «Аструп» (Данія).

Інтерлейкін-1 β (IL-1 β), інтерлейкін-1RA (IL-1RA), інтерлейкін-2 (IL-2), інтерлейкін-4 (IL-4), інтерлейкін-6 (IL-6), інтерлейкін-8 (IL-8), інтерлейкін-10 (IL-10), інтерлейкін-17 (IL-17) визначали з використанням набору реагентів «ВЕКТОР-БЕСТ» (Росія) (2014) для імуноферментного визначення концентрації. Для кожного із вищевказаних інтерлейкінів використовували спеціальний набір реагентів.

Фактор некрозу пухлини (TNF- α) характеризували за набором «альфа-ФНП-ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) (2014). Набір призначений для кількісного визначення TNF- α в біологічних рідинах і культуральних середовищах.

Ampli-sRANKL визначали за набором «ampli-sRANKL human» (BIOMEDICA, Австрія) (2010), призначеного для кількісного визначення ampli-sRANKL в плазмі, супернатанті клітинних культур методом імуноферментного аналізу.

Остеопротегерин (OPG) визначали за набором «Human Osteoprotegerin Instant ELISA» (Bioscience, Австрія) (2010). Набір призначений для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод визначення заснований на твердофазному варіанті імуноферментного аналізу з використанням поліклональних антитіл до OPG. Діапазон вимірюваних концентрацій 0 - 1000 пг/мл.

Трансформуючий фактор росту - β 1 (TGF- β 1) досліджували за набором «TGF- β 1 ELISA» (DRG, Німеччина) (2014), призначеним для кількісного визначення TGF- β 1 методом «сандвіч»-варіанту твердофазного імуноферментного аналізу в сироватці, плазмі крові або супернатанті клітинних культур.

Адипонектин визначали за набором «Human Adiponectin ELISA» (BioVendor, Чехія) (2012). Набір призначений для кількісного визначення адипонектину в сироватці або плазмі крові методом імуноферментного аналізу.

Вісфатин визначали за допомогою набору «Human /Mouse/ Rat Visfatin Enzyme Immunoassay Kit» (RayBio, США) (2014), призначеного для кількісного визначення вісфатина методом конкурентного імуноферментного аналізу в сироватці і плазмі крові.

Паратиреоїдний гормон визначали за допомогою набору «PTG Intact» (DRG, США) (2014). Набір призначений для кількісного визначення інтактного паратиреоїдного гормону у сироватці крові тварин методом твердофазного імуноферментного аналізу в діапазоні 0 - 700 пг/мл

Кальцитонін досліджували за набором «Calcitonin ELISA» (DRG, США) (2014). Набір призначений для кількісного визначення концентрації кальцитоніну в сироватці крові тварин методом твердофазного імуноферментного аналізу.

Естрадіол визначали за допомогою набору фірми Brahms (Німеччина) та DBC (Канада) на аналізаторі «Тесан» (Австрія) (2016). Набір призначений для кількісного визначення естрадіолу в сироватці або плазмі крові тварин методом твердофазного імуноферментного аналізу.

Оксипролін. Вміст загального, вільного та зв'язаного ОП у сечі і сироватці крові досліджували згідно з методикою П.Н. Шараєва (1990), яка базується на визначенні оптичної щільності червоного хромогену, одержуваного в результаті окиснення молекули ОП хлораміном Б і конденсації продуктів його окиснення з парадіметиламінобензальдегідом.

Робочу суспензію еритроцитів отримували за допомогою триразової відмивки розчином низької іонної сили Liss (виробник ТОВ «Гематолог») (2014) з режимом центрифугування при 2700 об/хв протягом 8 хв. Готову суспензію еритроцитів розводили в співвідношенні 1:200. В крові визначали параметри гемограм на автоматичному гематологічному аналізаторі MIDRAV BC-3000, 2014. Вивчення параметрів гемограми вміщувало визначення кількості еритроцитів (КЕ), гемоглобіну (Hb), гематокритного числа (Ht), що виражає вміст еритроцитів в загальному об'ємі крові. Середній вміст гемоглобіну у кожному еритроциті визначали за колірним показником, який розраховували шляхом поділу кількості гемоглобіну в одиницях Салі на подвоєння перших цифр кількості еритроцитів (при їх кількості, яка перевищує один млн.). Еритроцитарні індекси відповідали середньому об'єму еритроцитів ($OE_{сер.}$). Морфометрію еритроцитів периферичної крові досліджували для побудови гістограми розподілу еритроцитів за вмістом і гемоглобіну, геометричних параметрів еритроцитів та їх статистичних характеристик.

Концентрації АТФ, АДФ, АМФ визначали методом тонкошарової хроматографії на пластинках Silufon. Показник енергетичного заряду еритроциту (ЕЗЕ) підраховували як співвідношення: $ЕЗЕ = АТФ / (АДФ + АМФ)$.

Агрегація тромбоцитів. Індукована агрегація тромбоцитів досліджувалася з використанням комп'ютеризованого аналізатора агрегації тромбоцитів «SOLAR 2010» (Білорусь).

В якості індуктора використовували аденозиндифосфат (АДФ) в концентрації 2,5, 5,0 і 10,0 мкмоль /л. Запис агрегатограм проводили 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 [Павлов С. Б. та співав., 2013].

Рівень загального білка у сечі досліджували за набором «Загальний білок-УЛ» (Фелисит-Діагностика, Україна) (2012).

Рівень екскреції альбуміну з сечею визначали за допомогою набору ІмуноФА-Мікроальбумін (ЗАТ «НВО Імунотех», Росія) (2014), призначеного для кількісного визначення вмісту мікрокількостей альбуміну (мікроальбумінурії) в сечі методом конкурентного твердофазного імуноферментного аналізу.

Креатинін досліджували за допомогою біохімічного набору Creatinine liquidcolor (HUMAN, Німеччина) (2012), призначеного для визначення креатиніну кінетичним методом Jaffe з лужним пікратом.

Сечовину визначали за допомогою набору UREA liquidcolor (HUMAN, Німеччина) (2012). Набір призначений для колориметричного ферментативного визначення сечовини в сироватці, плазмі або сечі.

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 Стюдента та Крускала-Уолліса [6] за допомогою програми «Excel». Рівень достовірності приймали при $p < 0,05$.

Світлова мікроскопія та гістоморфологічні дослідження експериментального матеріалу проведені на кафедрі гістології Харківського національного медичного університету спільно з кандидатом біологічних наук, доцентом Деевою Т. В.

Результати досліджень та їх обговорення. На першому етапі нашої роботи ми вивчали реакцію СТ в різних органах, в тому числі, в пародонті, 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 (Гусев Є. В., Черешнев В. А., 2012). 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-посмуговану м'язову тканину 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 $4,65 \pm 0,54 \times 10^3$ /л ($p \leq 0,05$). Крім того, у тварин з патологією достовірно знижувався вміст лімфоцитів (з $7,20 \pm 0,35 \times 10^3$ /л до $5,78 \pm 0,52 \times 10^3$ /л). Крім реакції клітин білої крові через 6 годин після введення скипидару відзначалося підвищення кількості тромбоцитів (з $638,00 \pm 22,96 \times 10^3$ /л до $855,69 \pm 53,10 \times 10^3$ /мкл) і тромбоцитів (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 ($5,99 \pm 0,43 \times 10^3$ /л). Решта показників білої крові і тромбоцитів поверталися до рівня контролю.

Нами вивчені: наднирники, тимус, кишечник, слизова оболонка альвеолярного відростку нижньої щелепи, 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 слизова оболонка 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'ясованими етіологією та патогенезом. Нами був проведений експеримент з виявлення імуноморфологічних та імуногістохімічних особливостей пародонтиту та гінгівіту.

Проведені дослідження показали, що ключовими ознаками в патогенезі пародонтиту 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, тобто запальні зміни (явища периваскуліту). Агресія спрямована переважно на клітини стінок судин. Лімфоцити в клітинному інфільтраті представлені тільки CD3+, CD4+ та CD8+Т-лімфоцитами. В-лімфоцити та макрофаги відсутні.

Ендокринній системі належить провідна роль в регуляції метаболічних процесів і в підтримці загального гомеостазу організму [Резніков О. Г., 2014], 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, активність імунокомпетентних клітин (Rondinone С. М., 2016; Choi Н. К. et al., 2018; Kuchuk N. O. et al., 2018). Тому наступним етапом

експериментів було вивчення таких гормонів, як тиреотропний, кальцитонін та естрадіол, з'ясування їх ролі в резорбції та ремоделюванні при запальних захворюваннях пародонта.

При дослідженні рівнів паратиреоїдного гормону та кальцитоніну в крові було виявлено: 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 за контроль 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 та активацію остеокластів. 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 вичерпування 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 з'ясування 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 самиць-щурів як у інтактної групи тварин, так і при захворюваннях залишалася практично на рівні контролю: у інтактних тварин концентрація 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.

Нами 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 також було встановлено її достовірне зниження (1,43±0,04 г/см³) порівняно з групою інтактного контролю (p<0,05), що підтверджує порушення ремоделювання кісткової тканини в цих групах. 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 пародонта 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 надходження в кістки, інгібує активність остеокластів і зменшує кількість остеобластів, котрі пригнічують кісткову резорбцію, підвищує екскрецію з сечею фосфору, калію, магнію і води і стимулює перетворення неактивної форми вітаміну D₃ в нирках в активну, пригнічує розпад колагену та вихід мінеральних компонентів із матриксу кістки (Бабенко Г. А., Решеткіна Л. П., 1971, Rejnmark L. et al., 2016; Kuchuk N. O. et al., 2018), ми продовжили в наступній серії експериментів вивчати вплив кальцієво-фосфорного обміну на процеси руйнування та відновлення СТ пародонта. Одержані нами в попередніх дослідках різноспрямовані 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 з боку 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±0,08 ммоль/л, при нормі 2,09±0,05 ммоль/л). Індивідуальний аналіз показників 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 гіпокальціємією на початку експерименту 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 відбувається або вивільнення кальцію із депо, або, навпаки, його зв'язування. Цей процес відіграє важливу роль в регуляції концентрації іонів кальцію в крові (табл. 1).

Таблиця 1

Показники кальцій-фосфорного обміну у щурів з альвеолітом (X±S_x)

Показник	Інтактний контроль	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.

Так, рівень іонізованого 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

Було зареєстровано недостовірне зниження вмісту Са в крові ($1,85\pm 0,08$ ммоль/л, при нормі $2,09\pm 0,05$ ммоль/л), коливання 1,65 - 2,52 ммоль/л. Індивідуальний аналіз показників 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 експерименту спостерігали ознаки перифокального запалення (гіперемія, локальний набряк ясен), що потребує застосування протизапальної терапії.

Враховуючи особливу важливість концентрації внутрішньоклітинного кальцію для функціонування багатьох клітин та тканин організму його концентрація регулюється в досить вузьких 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. За нашими даними, у експериментальних тварин вміст неорганічного фосфору в крові був підвищений, відносно норми, в 1,38 рази ($p < 0,05$) (табл. 1).

З регуляцією обміну Са пов'язана головна функція кальцитоніну, гормону, що синтезується С-клітинами щитоподібної залози та є найпотужнішим інгібітором

кісткової резорбції (Таждєв Ф. С., 1991; Drew K. et al., 2015). 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 (табл. 1). 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 вмісту кальцитоніну в крові може продовжувати період формування лунки після видалення зуба при надходженні неорганічного кальцію в організмі. В експерименті у щурів рівень Са і неорганічного Р в добовій сечі (табл. 1) 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 змін вмісту біохімічних маркерів кісткового метаболізму в крові виявлені значні зсуви кальцій-фосфорного обміну у щурів з альвеолітом та його участь в резорбції тканин пародонта.

Окрім гормонів, кальцію та фосфору в багатьох біохімічних процесах в організмі бере участь велика кількість інших мікроелементів (Gide D. J., 2011; Jiang J. Q. et al., 2017; Літовка І. Г., Березовський В. Я., 2018). Тому в наступній серії експериментів нами була вивчена роль міді та цинку в процесах росту та дозрівання сполучної тканини пародонта. Встановлено, що в крові щурів з гінгівітом вміст міді зменшувався 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 – 17 мкмоль/л, а в 25 % тварин – 18 – 20 мкмоль/л. У 30 % щурів з гінгівітом вміст міді знаходився в межах норми – від 21 до 24 мкмоль/л. У 10 % щурів концентрація міді в плазмі крові підвищувалась (більше 27 мкмоль/л). Таким чином, вміст міді в плазмі крові тварин знижувався у 66 % щурів. У щурів з пародонтитом вміст міді також знижувався ($19,98 \pm 0,64$ мкмоль/л ($p < 0,05$)) – 80 % тварин. Лише у 20 % щурів рівень міді в плазмі крові був підвищений (від 24 до 27 мкмоль/л).

Таким чином, 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.

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 обтяжують процеси резорбції сполучної тканини у щурів з гінгівітом і альвеолітом; у щурів з пародонтитом можуть гальмувати проліферацію клітин сполучної тканини та прискорювати процес дозрівання СТ. Іони міді є необхідним матеріалом, як в процесі резорбції, так і в процесі ремоделювання при хворобах пародонта. Ці результати одержані нами вперше.

Оскільки за даними наукової літератури, рН слини є індикатором захворювання тканин пародонта (Кім Л. Б., Куліков В. Ю., Стюхляев В. П., 2003; Макарова О. В., Третьякович А. Г., 2017; Румянцев В. А., 2018), наступним етапом експериментів було визначення кислотно-основного стану крові та слини порожнини рота щурів. Встановлено, що зсув рН навіть на 0,1 в кислий бік є сигналом значних порушень енергетичного обміну та зв'язаної з ним системи підтримки гомеостазу ротової порожнини, а зниження рН до 6,6 супроводжується інгібуванням активності процесів перекисного окиснення ліпідів. Одержані результати оформлені у вигляді практичних рекомендацій.

Особливу увагу дослідників на сьогодні привертають дослідження участі СТ організму в механізмах розвитку патологічних процесів (Павлов С. Б., 2016). Однак, питання резорбції та ремоделювання СТ пародонта і вплив на ці процеси тромбоцитів безпосередньо при запальних захворюваннях на сторінках наукової літератури не обговорювалися.

Тому, на наступному етапі нашого дослідження було проведено вивчення функціональної активності тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному моделюванні пародонтиту, гінгівіту та альвеоліту.

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 (Павлов С. Б., 2013).

Аналіз агрегатограм при всіх захворюваннях пародонта виявив односпрямованість дій при всіх концентраціях індуктора агрегації (2,5, 5,0 та 10,0 мкмоль/л АДФ), що виражалось 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) аденозиндифосфату підвищують функціональну активність тромбоцитів, що характеризує ступінь та швидкість агрегації, і у тварин з гінгівітом не змінюють ці показники.

Високі концентрації (5,0 та 10,0 мкмоль/л) аденозиндифосфату не впливають на функціональну активність тромбоцитів у тварин з гінгівітом, однак призводять до зниження швидкості агрегації та часу максимальної швидкості та ступеня агрегації.

Найбільш виражені зміни спостерігали при пародонтиті. Наприклад, ступінь агрегації, % в контролі становить $87,3 \pm 10,27\%$, при пародонтиті – $64,88 \pm 1,55\%$; час досягнення максимальної швидкості агрегації - в контролі $270,4 \pm 32,25$ с, при пародонтиті – $264,25 \pm 26,87$ с; швидкість агрегації - в контролі $79,5 \pm 10,43\%$ хв, при пародонтиті – $56,3 \pm 1,74$ % хв; кількість тромбоцитів - в контролі $226,6 \pm 10,09$ тис./мкл, при пародонтиті – $214,2 \pm 4,14$ тис./мкл.

При мікроскопічному дослідженні констатували порушення гістоархітекτονіки сполучної тканини пародонту. В окремих мікропрепаратах СТ пародонту утворювала широкі фіброзні поля, інфільтровані лімфоцитами та гістіоцитарними елементами. У прошарках СТ 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 СТ з тромбоцитами. Виявлені порушення агрегаційної здатності тромбоцитів в кінці експерименту можна пояснити тим, що в СТ 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 (Ягода А. В., Корон П. В., 2015). При зниженні рівня фібриногену плазми та тромбоцитів послаблюється утворення мікроагрегатів, зворотних агрегатів і не зворотних агрегатів. Крім цього, при фіброзуванні та склерозуванні СТ відбувається підвищення рівня циклічних нуклеотидів в тромбоцитах, що знижує їх агрегаційну активність (Казанцев А. В., Суєтенков Д. Є., 2014; Ягода А. В., Корон П. В., 2015). Нами встановлено, що індуктор агрегації в концентрації 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 робити внесок до цих процесів (Аранович А. М., Трофімова Є. В., Сашенков С. Л., 2015; Баяхметова А. А., Єкешева А. А., Медетбекова А. А., 2016; Доманова Є. Т., Зобнін В. В., Соловйов С. Н., 2017). Це пояснює наявність зв'язку між агрегаційною активністю тромбоцитів та концентрацією прозапального ІЛ-6.

Процесам перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантного захисту організму (АОС) надається досить велика увага. 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 спричиняють зміни структури нуклеїнових кислот, амінокислот, протеїнів, ліпідів, загибель мембран і органел (Владимиров Ю. А., 2000; Gide D. J., 2011; Резніков О. Г., Полумбрик О. М., Бальон Я. Г., Полумбрик М. О., 2014). 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 (Барабой В. А., Резніков О. Г., 2013).

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 (Durasova Z., Gvordijakova A., 2008; Fisher-Wellman K., Bell H. K., Bloomer R. J., 2009; Lobo V., Phatak A., Chandra N., 2010).

Антиоксиданти містяться в організмі всюди, де є певна небезпека виникнення окисного вибуху (Lobo V., Phatak A., Chandra N., 2010; Резніков О. Г., 2014).

Компоненти системи цього захисту – антиоксидантні ферменти мітохондрій і цитозолу клітин (розчинні й мембрано-асоційовані), ферменти крові, жиророзчинні 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 (Fisher-Wellman K., Bell H. K., Bloomer R. J., 2009; Барабой В. А., Резніков О. Г., 2013).

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 (Меньщикова Є. Б. та співавт. 2016).

В зв'язку з вищенаведеним для вивчення кисневозалежних механізмів в патогенезі захворювань пародонта ми, поряд з продуктами ПОЛ та АОС, котрі широко вивчаються, відібрали для вивчення 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 пародонту змінюється. Так, при дослідженні стану ПОЛ та АОС у сироватці крові спостерігали активацію ПОЛ і зниження антиоксидантного захисту. Про це свідчить збільшення вмісту церулоплазміну в 1,9 рази та МДА в 1,6 рази порівняно з інтактним контролем, зниження показника АПІ в 3,4 рази. Концентрація церулоплазміну в контролі – $27,5 \pm 0,9$ мг%, при пародонтиті – $52,6 \pm 0,9$ мг%; ТБК-реактантів в контролі – $1,30 \pm 0,08$ мкмоль/г, при пародонтиті – $2,1 \pm 0,07$ мкмоль/г; каталаза в контролі – $0,55 \pm 0,06$ мккат/г, при пародонтиті – $0,36 \pm 0,08$ мккат/г. АПІ в контролі – $0,42 \pm 0,07$ ум.од., при пародонтиті – $0,17 \pm 0,03$ ум.од.. Паралельно з кров'ю стан ПОЛ та АОС ми досліджували в гомогенаті пародонту альвеолярного відростка нижньої щелепи у щурів та отримали односпрямовані результати.

Зсуви, що відбуваються в системі ТБК-реактантів, каталази і церулоплазміну підтверджували порушення антиоксидантного захисту пародонту, про- та антиоксидантного балансу в тканинах пародонту. Одержані нами результати узгоджуються із даними інших авторів (Богданов О. В., Костенко В. О., 2018; Маньковська І. М. та співавт., 2018).

На підтвердження одержаних результатів ми продовжили експерименти з вивчення енергетичного метаболізму мітохондрій, досліджували реакцію еритроцитів щурів при гінгівіті і визначали рівень циркулюючих імунних комплексів та їх молекулярний склад у тварин із захворюваннями пародонта. В результаті аналізу одержаних даних ми дійшли до висновку, що за умов гінгівіту розвивається окиснювальний стрес та посилення генерації АФК, підвищується загальний рівень ЦК, в основному, за рахунок підвищення вмісту найбільш токсигенних дрібно (<11 S) та середньомолекулярних (11 S – 19 S) імунних комплексів. Більшою мірою збільшення рівня ЦК ми відмічали в групі щурів з пародонтитом в 1,6 разів, в групі з гінгівітом - в 1,59 разів. 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.

При вивченні реакції еритроцитів при гінгівіті нами встановлено зниження рівня гемоглобіну і гематокритного числа (табл. 2).

Таблиця 2

Динаміка змін вмісту гемоглобіну, кількості еритроцитів та гематокриту при гінгівіті ($X \pm S_x$)

Термін спостереження	Показники		
	Кількість еритроцитів, $10^{12}/л$	Гемоглобін, г/л	Гематокритне число, г/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.

Максимальне зниження КЕ і Нб 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 – ферріпротопорфірину IX (Нікольський І. С., 2012). При цьому, екзогенний гемін здатен легко вбудовуватися в мембрану, дестабілізуючи її та викликаючи гемоліз (Скулачов В. П., 2001). Можливо, зміни КЕ і Нб обумовлені також і коливаннями гематокритного числа, що вказує на перерозподіл крові та порушення гемодинаміки – при гінігівіті. 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 знижений і навіть через добу не відновлювався.

Середній вміст гемоглобіну в еритроциті (HbE_{cp}) змінювався протягом експерименту хвилеподібно: на 30 хв. цей показник знижувався (на 12% відносно контролю) та був подібним до 150 хв. дослідження (на 10%). Через добу середній вміст гемоглобіну в еритроциті не 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.

Таким чином, проведені нами дослідження виявили широкий спектр кисневозалежних механізмів, задіяних в патогенезі застосованих нами моделей запальних захворювань пародонта, які змінюють кисневотранспортну функцію крові та обтяжують протікання захворювань. Ці дослідження проведені нами вперше.

На наступному етапі експериментів вивчали обмінні процеси сполучної тканини організму та їх роль в резорбції та ремоделюванні в тканинах пародонта.

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 колагеноутворення (Мазуров В. І., 1994).

Ми вивчали рівень вільного (ВОП), білокзв'язаного (БЗОП) та пептидозв'язаного оксипроліну (ПЗОП) в сечі та в крові щурів з пародонтитом, гінгівітом і альвеолітом (Шараєв П. Н., 1990; Шараєв П. Н. та співавт., 1990), 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 експерименту 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 – у досліді ($p < 0,05$).

Розвиток захворювань – гінгівіту та пародонтиту, і, меншою мірою, альвеоліту, - як свідчать результати експериментів, запускають процеси резорбції СТ пародонту, а 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. 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, зниженням синтезу та розпаду колагену.

Порушення кісткового метаболізму, викликані запальними захворюваннями пародонта призводять до розвитку дисбалансу в механізмах ремоделювання кісткової тканини. Ремоделювання становить собою пов'язані за часом процеси резорбції та формування кістки, що досягаються за рахунок міжклітинної взаємодії, опосередкованої впливом більшості цитокінів і факторів росту.

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, спорідненим 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 остеобластів (рис. 1). В експериментах пригнічення як RANK, так і RANKL призводило до значного остеопорозу в результаті недостатності остеокластів, а також порушення резорбції кістки. Взаємодію між RANK та RANKL, яка стимулює остеокластогенез через активацію ряду транскрипційних факторів, можна представити наступним чином:

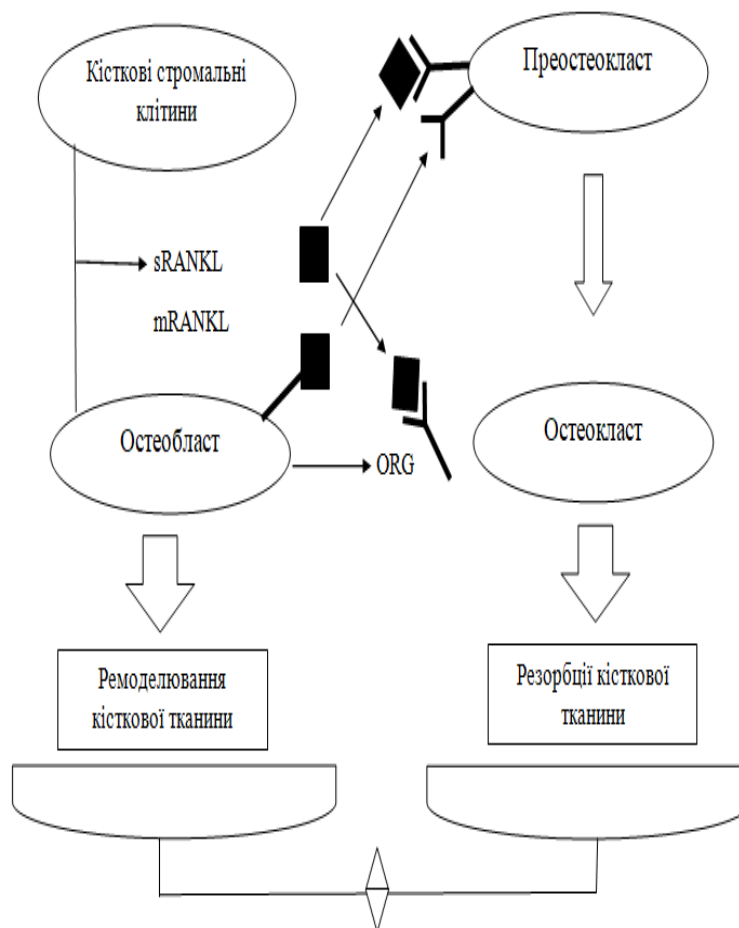


Рис. Схема дії системи RANK-RANKL-OPG

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 (Rondinone C. M., 2016; Onishi R. M., Gaffen R. M., 2017; Sagalovsky S., Schonert M., 2017; Tesmer L. A. et al., 2018).

Тому, наступним етапом експериментів було вивчення значення міжклітинних медіаторів і системи RANK-RANKL-OPG в процесах резорбції та ремоделювання в м'яких і твердих тканинах пародонта. Нами встановлено, що у щурів із пародонтитом є значні відмінності цитокінового профілю від щурів контрольної групи (табл. 3) (вміст вісфатину в контролі $141,61 \pm 8,70$ мкг/мл, при пародонтиті – $134,08 \pm 8,77$ мкг/мл; вміст IL-17 в контролі $28,17 \pm 0,53$ пг/мл, при пародонтиті - $33,08 \pm 0,10$ 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 нижчий, ніж в контролі.

Таблиця 3

Цитокіновий склад у щурів при пародонтиті ($X \pm S_x$)

Цитокіни	Одиниці вимірювання	Інтактні щури	Щури з пародонтитом
RANKL	пмоль/л	0,13±0,03	0,072±0,02*
OPG	пг/мл	21,59±2,01	28,9±3,50
IL-1Ra	пг/мл	2,53±0,13	3,77±0,24*
TGFβ1	нг/мл	26,33±0,62	24,54±0,55*
Адипонектин	мкг/мл	0,63±0,01	0,66±0,02
Вісфатин	нг/мл	141,61±8,70	134,08±8,77
IL-17	пг/мл	28,17±0,53	33,08±0,10*

Примітка. * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою тварин, $n=20$.

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 робить внесок в процеси протидії впливу протизапальних цитокінів, до яких відноситься RANKL. Неоднозначно можна трактувати зниження рівня TGFβ1 в зв'язку з його модуляторними функціями в системі цитокінів. Підвищення ж рівня IL-17 (табл. 3) підтверджує факт розвитку процесу резорбції, яка була індукована альтерацією тканин пародонту.

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 TGFβ1 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 поява їх між іншими парами свідчить про порушення роботи регуляторних механізмів при пародонтиті та гінгівіті (табл. 4).

Таблиця 4

Кореляція рівнів цитокінів в групі щурів з пародонтитом ($X \pm S_x$)

Цитокіни	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 $p < 0,05$, $n = 20$.

Нами встановлені кореляційні зв'язки між цитокінами, RANKL та OPG при пародонтиті (табл. 5). Вперше виявлені також зв'язки між рівнем інтерлейкіну-17, RANKL та остеопротегерину, які свідчать про важливу роль досліджуваних цитокінів в порушеннях кісткового ремоделювання при пародонтиті (табл. 5).

Таблиця 5

**Кореляційні зв'язки між цитокінами, RANKL та OPG при пародонтиті
($\bar{X} \pm S_x$)**

Показники	Інтактний контроль		Щури з пародонтитом	
	IL-17	RANKL	IL-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, $n = 20$.

Таким чином, в результаті аналізу проведених експериментів нами встановлено, що регуляція ремоделювання сполучної тканини знаходиться під керуванням сигнального шляху системи ліганду рецептора активатора ядерного фактора κB (RANKL), рецептора активатора ядерного фактора κB (RANK) та остеопротегерину (OPG). Додаткову регуляторну ланку складають цитокіни.

Узагальнюючи та аналізуючи результати останнього експерименту, ми виділили три основні групи медіаторів, що відповідають певним факторам і відображають цитокінові механізми участі в резорбції та ремоделюванні при розвитку запальних захворювань пародонта (рис. 2).

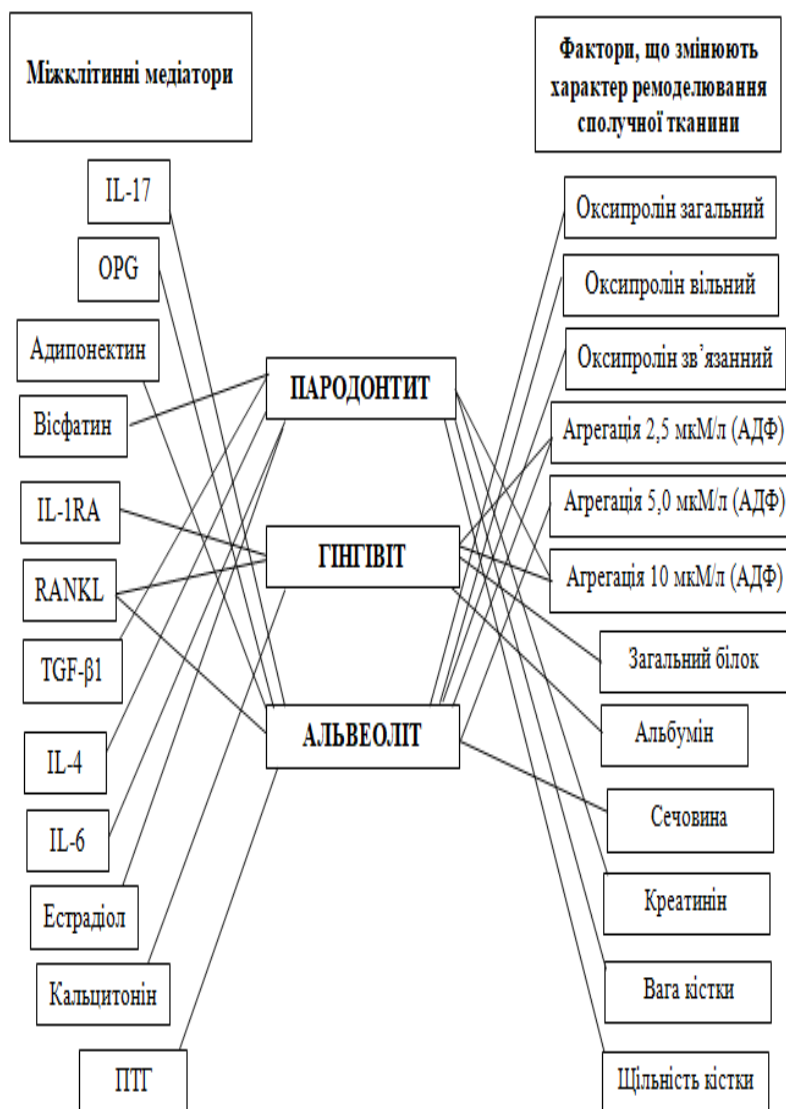


Рис. 2. Цитокінові механізми при запальних захворюваннях пародонта, які змінюють характер ремоделювання СТ.

Група перша включає рівні вісфатину, естрадіолу, IL-4, IL-6, TGF-β1, вагу та щільність кістки, креатинін, параметри агрегації тромбоцитів при концентрації індуктора 10 мкмоль/л. Цитокіни, що входять до цієї групи саме ті, що, за нашими даними, характеризують найбільш тяжкий запальний процес в пародонті – пародонтит. А наявність в цій групі параметра агрегації тромбоцитів тільки при найвищій концентрації індуктора (10 мкмоль/л) свідчить про те, що механізми регулювання з боку тромбоцитарної ланки гемостазу відіграють велике значення в резорбції та ремоделюванні.

В групу 2 ми віднесли рівні IL-1RA, RANKL, кальцитонін та параметри агрегації тромбоцитів при концентрації індуктора 2,5 та 5,0 мкмоль/л. Вони відповідають компенсаторним механізмам, що діють на рівні СТ при достатньому рівні фізіологічних резервів, при яких пошкодження на місцевому рівні локалізоване, а на системному – компенсоване. Дійсно, гінгівіт – запалення ясен ще без порушення цілісності зубоясневого з'єднання - і є якби першою стадією пародонтиту.

I, нарешті, третя група, до якої ми віднесли рівні IL-17, OPG, RANKL, ПТГ, шок, якого зазнають щури при моделюванні альвеоліту і який викликає різку активацію обмінних процесів на рівні всієї системи СТ організму тварин, ВОП, ЗОП, БЗОП, ПЗОП та параметри агрегації тромбоцитів при концентрації індуктора 2,5 і 5,0 мкмоль/л, сечовину.

На останньому етапі роботи ми провели макро- та мікроскопічне вивчення експериментального матеріалу, отриманого від щурів з пародонтитом, гінгівітом та альвеолітом, яке було проведено спільно з кандидатом біологічних наук, доцентом кафедри гістології ХНМУ Деєвою Т.В., за що ми висловлюємо їй щире вдячність.

Аналіз гістоморфологічного матеріалу переконливо показав, що вивчені захворювання мають запальний характер і що в тканинах пародонту відбувається постійно як процес резорбції, так і процес ремоделювання. Про це свідчить одночасна наявність остеобластів, остеокластів та інших клітин сполучної тканини.

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, пептидозв'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. Різностямованість 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, 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 аденозидинової 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 $TG\beta_1$ та адипонектину). Встановлено, що регуляція ремоделювання сполучної тканини знаходиться під керуванням сигнального шляху системи ліганду рецептора активатора ядерного фактора κB (RANKL), рецептора активатора ядерного фактора κB (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 $TG\beta_1$, $TG\beta_1$ 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, яке забезпечує гомеостаз порожнини рота, є слина чи рідина рота. Основною функцією слини є захист цілісності тканин порожнини рота завдяки її антимікробним, противірусним, очищаючим 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 тканин і рідини 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 вмісту 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.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ 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. Черемісіна В. Ф. Роль маркера остеопороза – оксипроліна в патогенезі пародонтита и гінгівита // *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 наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів та їх систематизація).

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 наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів та їх систематизація).

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 наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів та їх систематизація).

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 обміну 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. (Внесок дисертанта – розробка схеми наукової

роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів та їх систематизація).

10. Черемісіна В. Ф. Роль остеопротегерину в механізмах розвитку вторинного остеопору 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 наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів та їх систематизація).

12. Berezniakova A. I., Cheremisina V. F. 4 and 6 interleukin's aktion in the pathogenesis of periodontitis, gingivitis and dental alveolitis // *Wiadomosci Lekarskie*. - 2017. - Т. LXX, № 5. - P.910–913. (Внесок дисертанта – розробка схеми наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів та їх систематизація).

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. (Внесок дисертанта – розробка схеми наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів та їх систематизація).

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 наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів та їх систематизація).

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. (Внесок дисертанта – розробка схеми наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів та їх систематизація).

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. 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 наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів та їх систематизація).

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 наукової роботи, проведення експериментів, статистична обробка результатів та їх систематизація).

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. (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 березня 2017. - 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 междунар. участием посвященной «Году молодежи». - Душанбе, 28 апреля 2017. - 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. – С. 120.

28. Черемисина В. Ф. Цитокины и их участие в remodelировании костной ткани пародонта // *Бюллетень XVI чтений им. В. В. Подвысоцкого*. - Одеса, 18-19 травня 2017. - 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. - 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. - 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. - 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. - 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. - 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. - 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. - 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). - 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. - 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. - 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. - 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. - С. 219-221.

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. – Сумський державний університет МОН України, Суми, 2020.

Дисертація присвячена вирішенню актуальної проблеми сучасної патологічної фізіології з'ясуванню патогенетичних особливостей резорбції та ремоделювання сполучної тканини при запальних захворюваннях пародонта. Встановлено, що моделювання гострих запальних захворювань тканин пародонта призводить до розвитку порушень механізмів регуляції сполучної тканини. Основою цього процесу є дисбаланс у системі цитокінів. Найбільш виразні ці зміни при пародонтиті, найменш – при альвеоліті.

Виявлено, що вивчені біохімічні маркери кісткового метаболізму (кальцій, фосфор, мідь, цинк) є важливими медіаторами в формуванні кісткової тканини. Вони можуть як запобігати передчасному її руйнуванню, так і сприяти відновленню. 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.

Розлад взаємодії клітин сполучної тканини з тромбоцитами визначає порушення механізмів репаративної регенерації і вихід патологічного процесу на системний рівень. Показано, що індуктор агрегації тромбоцитів АДФ в концентрації 10 мкмоль/л є основним молекулярним посередником зриву природного перебігу репаративної регенерації.

Встановлено, що регуляція ремоделювання сполучної тканини знаходиться під керуванням сигнального шляху системи ліганду рецептора активатора ядерного фактора κ B (RANKL), рецептора активатора ядерного фактора κ B (RANK) та остеопротегерину (OPG).

Клінічне та гістоморфологічне вивчення експериментального матеріалу свідчить про одночасну присутність як в м'яких, так і в твердих тканинах пародонта клітин сполучної тканини, що відповідають за резорбцію та ремоделювання неорганічного та органічного кісткового матриксу.

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

АННОТАЦІЯ

Черемисина В. Ф. Патогенетические особенности резорбции и ремоделирования соединительной ткани при воспалительных заболеваниях пародонта (экспериментальное исследование). – Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.04 - патологическая физиология. – Сумской государственной университет МОН Украины, Сумы, 2020.

Диссертация посвящена решению актуальной проблемы современной патологической физиологии – изучению патогенетических особенностей резорбции и ремоделирования соединительной ткани при воспалительных заболеваниях пародонта. Установлено моделирование острых воспалительных заболеваний тканей

пародонта приводит к развитию нарушений механизмов регуляции соединительной ткани. Основой этого процесса является дисбаланс в системе цитокинов. Наиболее выражены эти изменения при пародонтите, наименее – при альвеолите.

Выявлено, что изучение биохимических маркеров костного метаболизма (кальций, фосфор, медь, цинк) являются важными медиаторами в формировании костной ткани. Они могут как предотвращать преждевременное их разрушение, так и способствовать восстановлению. Полученная последовательность снижения оптической плотности костной ткани альвеолярного отростка нижней челюсти у крыс при различных экспериментальных моделях отображает значение гормонального фактора в патогенетических механизмах развития нарушений метаболизма соединительной ткани пародонта.

Расстройство взаимодействия клеток соединительной ткани с тромбоцитами определяет нарушения механизмов репаративной регенерации и выход патологического процесса на системный уровень. Показано, что концентрация индуктора агрегации 10 мкмоль/л является основным молекулярным посредником срыва естественного течения репаративной регенерации.

Установлено, что регуляция ремоделирования соединительной ткани находится под управлением сигнального пути системы лиганда рецептора активатора ядерного фактора κВ (RANKL), рецептора активатора ядерного фактора κВ (RANK) и остеопротегерина (OPG).

Клиническое и гистоморфологическое изучения экспериментального материала свидетельствует об одновременном присутствии как в мягких, так и в твердых тканях пародонта клеток соединительной ткани, отвечающих за резорбцию и ремоделирования неорганического и органического костного матрикса.

Ключевые слова: соединительная ткань, резорбция, ремоделирование, пародонтит, гингивит, альвеолит.

SUMMARY

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

The thesis for a degree of Doctor of Medicine in specialty 14.03.04 – Pathological Physiology. – Sumy State University, 2020.

The dissertation is devoted to solving the actual problem of modern pathological physiology – the explanation of pathogenetic features of resorption and remodeling of connective tissue of rats with inflammatory periodontal disease. It has been established that on the experimental modeling of acute turpentine inflammation of the rat's back skin, the connective tissue of all organs and tissues of the body, including the periodontal connective tissue, reacts. Phase changes in the connective tissue of the body of rats in response to local inflammation are both local and generalized. The stage of the processes occurring in the far inflammation of the organs corresponds to the classical pattern of development of inflammatory reaction: in the early terms - the predominance of exudative phenomena, which in the later (2 days) change with proliferation. Together with the answer from the cells of the immune system – leukocytes, macrophages, mast cells, there are generalized

changes in the cells of the fibroblastic series - increasing their quantity, collagen production and changes in proliferative potential.

Modeling of acute inflammatory diseases of periodontal tissues leads to the development of disorders of the mechanisms of regulation of connective tissue. The basis of this process is an imbalance in the cytokine system: there is an increase in the level of adipokine, there is a relationship between pro- and anti-inflammatory cytokines (IL-17 and IL-1RA, IL-17 and visfatin, as well as an imbalance with a negative correlation between levels of TGF β 1 and adiponectin). Expressive these changes during periodontitis, the least - with alveolitis.

It has been found that the study of biochemical markers of bone metabolism (calcium, phosphorus, copper, zinc) are important mediators in the formation of bone tissue. They can both prevent premature destruction and restore recovery.

Disturbance of the balance of trace elements in the body is one of the etiological factors for changes in the remodeling of bone tissue. Significant shifts in calcium-phosphorus metabolism - in rats with periodontitis. Hypocopperemia and hypozincemia practically do not aggravate resorption of bone tissue with alveolitis and gingivitis, and hypocopperemia in rats with periodontitis can inhibit proliferation of periodontal connective tissue cells and accelerate their maturation process. Also, periodontitis is characterized by a disruption of the metabolism of calcium and phosphate, as well as metabolic acidosis, which stimulates the resorptive activity of osteoblasts.

The resulting reduction in the optical density of the bone tissue of the alveolar process of the mandible in rats in various experimental models reflects the importance of the hormonal factor in the pathogenetic mechanisms of development of metabolic disorders of the connective tissue periodontal disease. Since the biochemical criteria of the pathological process are the levels of parathyroid hormone and calcitonin, the hormones that reflect the regulation of metabolic processes in the connective tissue of periodontal disease, changes in their content in the blood can be attributed to the activity of the inflammatory process: the parathyroid hormone causes an inhibitory effect on the formation of bone tissue, and calcitonin and, especially, estradiol, practically, do not play a decisive role in the mechanisms of resorption and remodeling of the periodontal connective tissue.

In periodontitis and gingivitis there are less pronounced deviations of the values of levels of hormones in the blood from the control digits, but have a more pronounced inflammatory component in the pathogenesis of diseases.

The disruption of the interaction of cells of the connective tissue with platelets determines the disturbances of the mechanisms of reparative regeneration and the output of the pathological process to the systemic level. The mechanism is implemented through the system of cytokines that influence the activation of proliferative processes in the connective tissue and manifested by a decrease in the functional activity of the platelets: the most pronounced changes in periodontitis, the least - in alveolitis. It is shown that the concentration of the aggregator inducer of 10 μ mol/l is the main molecular mediator of the breakdown of the natural course of reparative regeneration.

It has been established that the regulation of connective tissue remodeling is controlled by the signal path of the RANKL receptor ligand receptor, the nuclear factor κ B activator (RANK), and the osteoprotegerin (OPG) receptor ligand. The adjunct is an additional regulatory element. An increase in the level of RANKL activating resorption is

accompanied by an increase in adipokine levels, in particular adiponectin, which is a factor in increasing resorption and a factor in increasing the level of RANKL.

Clinical and histomorphological study of the experimental material (periodontitis in rabbits and rats, gingivitis, alveolitis in rats), first, confirmed the inflammatory nature of periodontal diseases, and secondly, it proves that the processes of resorption and remodeling are constantly occurring in periodontal tissues. This is evidenced by the simultaneous presence in both soft and hard tissues of periodontium, osteoclasts, osteoblasts, fibroblasts and other connective tissue cells responsible for resorption and remodeling of the inorganic and organic bone marrow.

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

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АДФ	—	аденозиндифосфорна кислота;
АО	—	антиоксиданти;
АОС	—	антиоксидантна система;
АПІ	—	антиоксидантний-прооксидантний індекс;
БЗОП	—	білковозв'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;
ОЕ ср	—	об'єм еритроцитів середній;
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;
ІЛ	—	інтерлейкін;
НВ	—	гемоглобін;
НВЕср	—	середній вміст гемоглобіну;
НТ	—	гематокритне число;
ОРР	—	остеопротегерин;
RANK	—	рецептор активатора ядерного фактора – кВ;
RANKL	—	ліганд рецептора активатора ядерного фактора – кВ;
SB	—	стандартний бікарбонат;
TGF	—	трансформуючий фактор росту;

Th — Т-хелпери;
TNF — фактор некрозу пухлин.