

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**ГАНЧЕВ КИРИЛО СЕРГІЙОВИЧ**

УДК:616.379-008-064:616.314-089.87]-06-092.9

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ПАТОГЕНЕЗ ПОРУШЕННЯ МЕХАНІЗМІВ РЕПАРАЦІЇ ПАРОДОНТУ  
ПІСЛЯ ЕКСТРАКЦІЇ ЗУБУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО  
ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук.

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

\_\_\_\_\_ К.С. Ганчев

Науковий керівник – **Абрамов Андрій Володимирович**, доктор медичних наук, професор

Запоріжжя – 2019

## АНОТАЦІЯ

*Ганчев К.С.* Патогенез порушення механізмів репарації пародонту після екстракції зуба за умов експериментального цукрового діабету. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 «Патологічна фізіологія» (222 Медицина). – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2019.

Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2019.

Вперше на моделі експериментального цукрового діабету дана динамічна комплексна характеристика стану системи монооксиду азоту, вродженої ланки місцевого імунітету та особливостей перебігу репаративних процесів тканин пародонту, визначені особливості стану кісткової тканини мандибули, мінералізації емалі й дентину молярів без екстракції зуба та в різні періоди після його видалення.

Вперше визначено, що у слизовій оболонці ротової порожнини щурів із цукровим діабетом формується ізозформний дисбаланс ферменту NOS, відмічаються нижчі вихідні значення вмісту та концентрації nNOS та eNOS, але значно вищі – iNOS, на фоні високого вихідного рівню нітритів, концентрація яких зростає після екстракції зуба тільки на 7-у добу, залишаючись сталою до 14-ї доби.

За результатами імуногістохімічних досліджень встановлено, що для цукрового діабету притаманна розповсюджена макрофагальна інфільтрація через що екстракція зуба незначно збільшує експресію CD68, процес відбувається повільно, але характеризується пролонгацією у віддаленому періоді. В кістковій тканині мандибули цукровий діабет сприяє посиленню резорбтивних процесів, які характеризуються низькими значеннями радіологічної щільності в області кореня

1-го моляру в 2,27 рази, але високими в ділянці інтеральвеолярно-радикулярних перетинок всіх трьох нижніх молярів, при цьому загоєння альвеолярної лунки після видалення зуба відбувається неефективно через порушення резорбційно-репаративних взаємин.

За результатами імуногістохімічних досліджень встановлено, що співвідношення ізоформ NOS у слизовій оболонці ротової порожнини щурів із ЕЦД характеризується нижчими вихідними значеннями вмісту та концентрації nNOS й eNOS, але значно вищими – iNOS. Доведено, що екстракція зуба на фоні ЕЦД характеризується помірним збільшенням показників експресії eNOS та nNOS з 1-ї до 7-ї доби, але зниженням на 14-у добу. iNOS навпаки, на 1-шу та 7-у доби після екстракції зуба показує «лавиноподібне» збільшення експресії більш ніж у 2 рази у порівнянні із групою «Діабет-0», та практично у 4 рази порівняно із «Контролем-0»; 14-а доба характеризується не зменшенням, а навпаки збільшення питомої площі IPM до iNOS на чверть, порівняно із «Контролем-14».

Розширені наукові поняття щодо чисельності CD68-імунопозитивних макрофагів та особливостей проліферативних процесів в слизовій оболонці ротової порожнини після екстракції зуба у щурів з цукровим діабетом, які вказують на те, що цим процесам притаманна розповсюджена макрофагальна інфільтрація та висока проліферативна активність фібробластів. При цьому, через добу після екстракції зуба кількість макрофагів практично не збільшується і стає високою з 7-ї до 14-ї доби постекстракційного періоду, в той час як проліферативна активність фібробластів суттєво збільшується одразу після видалення зуба, продовжує зростати і сягає максимальних значень на 14 добу постекстракційного періоду. Розрахунковий імунорегуляторний індекс за вмістом CD68 та Ki-67 показав, що у щурів контрольних груп, незалежно від терміну після екстракції він завжди складає значення менше одиниці, що свідчить про спрямованість процесу у бік імунного захисту. Цукровий діабет зсуває процес у бік високої проліферації, яку підтримує приховане запалення через нейротрофічні розлади та імунні порушення.

За результатами радіологічного дослідження напівмандибул щурів групи контролю було визначено, що видалення зуба щурам контрольних груп з нормальними показниками вуглеводного обміну супроводжується динамічними змінами радіологічної щільності не тільки в області екстракції, запальний процес зачіпає оточуючі 2-й та 3-й моляри, призводячи до її зниження в ділянках ІАРП. За цих умов рання резорбтивна фаза місцевої запальної реакції закінчується до 7-ї доби постекстракційного періоду, змінюючись до 14-ї доби на репаративну.

Сформований цукровий діабет у щурів навіть без хірургічних втручань призводить до посилення резорбтивних процесів в кістковій тканині мандибули, що проявляється зниженням RD в області кореня 1-го моляру й ІАРП всіх трьох нижніх молярів. Екстракція у них 1-го моляру призводить на 1-у добу до прогнозованого зниження радіологічної щільності в області його кореня, але відбувається неочікуване підвищення RD не тільки в зоні ІАРП 1-го моляру, подібна картина – показник RD був збільшений у ІАРП 2-го та 3-го молярів на 21,8 % і 18,3 %, відповідно. На 7-у добу постекстракційного періоду у щурів з ЕЦД, на відміну від показників контрольних щурів групи «Контроль-7», характерно зниження радіологічної щільності в області ІАРП 2-го й 3-го молярів на 24,5 % та 36 %, відповідно, з її зниженням у ділянці кореня 2-го моляра на 13,5 %. 14-а доба спостереження вказує на істотні структурні зміни в досліджуваних ділянках, тобто запальний процес не завершується, а, навпаки, відзначається зниження показника RD в області альвеолярної лунки та ІАРП 1-го моляра на 28,6 % й 33 %, відповідно. Явні резорбтивні процеси виявляються при дослідженні показників радіологічної щільності частин 2-го моляра, при цьому відзначено зниження RD в області коронки на 8,2 %, кореня зуба на 19,9 %, ІАРП – на 18,2 %. Резорбтивні процеси торкнулися й 3-го моляру, оскільки відзначено зниження RD його кореня на 15,8 %.

**Наукова новизна.** Вперше на моделі експериментального цукрового діабету дана динамічна комплексна характеристика стану системи монооксиду азоту, вродженої ланки місцевого імунітету та особливостей перебігу репаративних процесів тканин пародонту, визначені особливості стану кісткової

тканини мандибули, мінералізації емалі й дентину молярів без екстракції зуба та в різні періоди після його видалення.

Вперше визначено, що у слизовій оболонці ротової порожнини щурів із цукровим діабетом формується ізоформний дисбаланс ферменту NOS, відмічаються нижчі вихідні значення вмісту та концентрації nNOS та eNOS, але значно вищі – iNOS, на фоні високого вихідного рівню нітритів, концентрація яких зростає після екстракції зуба тільки на 7-у добу, залишаючись сталою до 14-ї доби.

Розширені наукові поняття щодо чисельності CD68-імунопозитивних макрофагів та особливостей проліферативних процесів в слизовій оболонці ротової порожнини після екстракції зуба у щурів з цукровим діабетом, які вказують на те, що цим процесам притаманна розповсюджена макрофагальна інфільтрація та висока проліферативна активність фібробластів. При цьому, через 1 добу після екстракції зуба кількість макрофагів практично не збільшується і стає високою з 7-ї до 14-ї доби постекстракційного періоду, в той час як проліферативна активність фібробластів суттєво збільшується одразу після видалення зуба, продовжує зростати і сягає максимальних значень на 14 добу постекстракційного періоду.

Подальшого розвитку набуло положення щодо особливостей радіологічної щільності тканин інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок, коронок та коренів першого, другого й третього молярів. Доведено, що в кістковій тканині мандибули цукровий діабет створює умови до посилення резорбтивних процесів, які характеризуються низькими значеннями радіологічної щільності в області кореня 1-го моляру в 2,27 рази, але високими – в ділянці інтеральвеолярно-радикулярних перетинок всіх трьох нижніх молярів, при цьому загоєння альвеолярної лунки після видалення зуба відбувається неефективно через порушення резорбційно-репаративних взаємин.

**Практичне значення.** Робота є фундаментальним дослідженням. Її результати розширюють наукові уявлення про патогенетичні особливості стану кісткової тканини мандибули, системи монооксиду азоту, вродженої ланки

місцевого імунітету та особливостей перебігу регенерації м'яких тканин пародонту постекстракційної альвеолярної лунки та прилеглих молярів за умов експериментального цукрового діабету в залежності від терміну після екстракції зуба. Отримані результати характеризують динаміку формування та прогресування постекстракційних ускладнень на тлі стійкої гіперглікемії.

Запропонований розрахунковий імунорегуляторний індекс за вмістом CD68 та Ki-67 може застосовуватися для характеристики спрямованості та балансу регенеративного процесу в слизовій оболонці ротової порожнини.

Нові теоретичні положення дисертації використовуються в навчальному процесі на кафедрі загальної патофізіології ДВНЗ «Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедрі патофізіології Української медичної стоматологічної академії МОЗ України, кафедрі патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету МОЗ України, кафедрі патологічної фізіології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», кафедрі патологічної фізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету МОЗ України, кафедрі загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України.

*Ключові слова: експериментальний цукровий діабет, екстракція зуба, пародонт, репарація, система монооксиду азоту, Ki-67, CD68, щури.*

## ANNOTATION

*Hanchev K.S.* Pathogenesis periodontal repair mechanisms disorders after the extraction of a tooth in conditions of experimental diabetes mellitus. – Qualification scientific work as the manuscript.

Thesis for a Candidate of Medical degree by specialty 14.03.04 “Pathological physiology”. – Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2019.

In scientific work is defined dynamic complex characteristic of the state of the nitrogen monoxide system, of the innate link of the local immunity and of the peculiarities of the regeneration of periodontium soft tissues, were determined the specific features of mandible bone tissue, mineralization of enamel and dentin of molars without extraction of the tooth, and in different periods after its extraction.

It was proved that in the mucous membrane of the oral cavity of rats with diabetes mellitus is forming an isoformal imbalance and a high initial level of nitrites, the concentration of which increases after the extraction of the tooth only on the 7th day and remains stable until the 14th day. It has been determined that on the background of experimental diabetes mucous membrane of the oral cavity, the criteria for proliferation are characterized by a growing trend with maximum values at 14 days after the extraction period.

According to the results of immunohistochemical studies it was established that for diabetes mellitus is typical widespread macrophage infiltration, because extraction of the tooth slightly increases the expression of CD68, the process is slow, but is characterized by prolongation in the long-term period. In bone tissue, mandibles of diabetes contribute to the enhancement of resorptive processes characterized by low values of radiological density in the region of the root of the 1st molar in 2.27 times, but high in the region of the interselecto-radial incisions of all three lower molars, with alveolar healing after removal the tooth is ineffective because of a violation of resorptive-reparative relationships.

According to the results of immunohistochemical studies, the correlation of NOS isoforms in the oral mucosal membrane of rats with experimental diabetes mellitus is characterized by lower initial values of the content and concentration of nNOS and eNOS, but significantly higher iNOS. It was proved that the tooth extraction on the background of experimental diabetes mellitus is characterized by a moderate increase in the expression of eNOS and nNOS from the 1st till the 7th day, but the decrease on the 14th day. On the contrary, iNOS on the 1st and 7th day after extraction of the tooth shows an “avalanche” increase in expression more than 2 times as compared to the Diabetes 0 group, and practically 4 times compared with the “Control-0”; The 14th day

is characterized not by a decrease, but by contrast, an increase in the specific area of the IRM to iNOS by a quarter, compared with the “Control-14”.

High levels of expression of CD68 and Ki-67 proteins that characterize proliferative and reparative relations in the mucous membrane of the rats' oral cavity, are also typical for diabetes mellitus. It was found that activated macrophages and proliferative active cells are almost absent in the intact periodontium. At experimental diabetes mellitus, on the contrary, is observed a significant diffuse infiltration of the periodontium soft tissue by macrophages and high proliferative activity; on the 1st day after the extraction of the tooth quantitative characteristics of expression of CD68 don't change, and Ki-67 significantly increase. From the 7th to the 14th day, the content of CD68 and KI-67 instead of the decrease, as in the control, is growing dynamically. The estimated immunoregulatory index for CD68 and KI-67 content showed that in control group rats, regardless of the time after extraction, it always amounts to less than one, indicating the direction of the process towards the immune defense. Diabetes mitigates the process of high proliferation, which is supported by hidden inflammation due to neurotrophic disorders and immune disorders.

In accordance with the results of the radiologic study of the semi mandible of the control group of rats, it was determined that the extraction of the tooth of the rats of control groups with normal carbohydrate metabolism parameters is accompanied by dynamic changes in the radiological density not only in the extraction area, the inflammatory process affects the surrounding 2nd and 3rd molars, resulting in its decrease in areas of inter alveolar and inter radicular septums. Under these conditions, the early resorptive phase of the local inflammatory reaction ends with the 7th day of the post-extraction period, changing to the 14th day on the reparative.

Formed diabetes mellitus in rats, even without surgical interventions, leads to increased resorptive processes in mandibular bone tissue, which is manifested by a decrease in RD in the roots of the first molar and IARP of all three lower molars. Extracting from them the 1st molar leads to the first day of the predicted decrease in radiological density in the region of its root, but there is an unexpected increase in RD not only in the IARP zone of the 1st molar, a similar picture – the RD index was



increased in IAPP 2nd and 3rd molars by 21.8 % and 18.3 %, respectively. In the 7th day of the post-extraction period in rats with an EPD, in contrast to the control rats of the control group-7, the decrease in radiographic density in the IARP region of the 2nd and 3rd molars is 24.5 % and 36 %, respectively , with its decrease in the area of the root of the 2nd molar by 13.5 %. The 14th day of observation indicates significant structural changes in the studied areas, that is, the inflammatory process is not completed, but, on the contrary, decreases in the RD index in the alveolar well and IARP of the 1st molar by 28.6 % and 33 % respectively. Explicit resorptive processes are revealed in the study of the radiological density of parts of the 2nd molar, with a decrease in RD in the crown region by 8.2 %, a tooth root by 19.9 %, and IARP by 18.2 %. Resorptive processes also touched the 3rd molar, as it was noted reduction of RD its root by 15.8 %.

**Scientific novelty.** For the first time in the model of experimental diabetes, a dynamic complex characterization of the state of the system of nitrogen monoxide, the innate link of local immunity and the peculiarities of the process of reparation and regeneration of soft tissues of periodontal disease, specific features of mandibular bone tissue, mineralization of enamel and dentin of molars without extraction of the tooth and in different periods after it is deleted.

For the first time, it has been determined that in the mucous membrane of the oral cavity of rats with diabetes, the isoformal imbalance of the enzyme NOS is formed, the lower initial values of the content and concentration of nNOS and eNOS are marked, but significantly higher – iNOS, against the background of high initial nitrite levels, the concentration of which increases only after extraction of the tooth only on the 7th day, remaining steady until the 14th day.

Extended scientific concepts regarding the features of expression of CD68 and Ki-67 proteins in the mucous membrane of the oral cavity of rats, which indicate that diabetes mellitus is characterized by widespread macrophage infiltration and proliferative activity due to extraction of the tooth slightly increases the expression of CD68, the process is slow, but characterized by prolongation in the distant period, there

is a high proliferative activity immediately after tooth extraction and is characterized by a growing trend with maximum values of 14 days after the extraction period.

The further development received the idea regarding the radiological density of tissues of inter alveolar and inter radicular septums, crowns and roots of the first, second and third molars. It was proved that in mandible bone tissue diabetes mellitus favours the strengthening of resorptive processes characterized by low values of radiological density in the area of the root of the 1st molar by 2.27 times, but high in the area of the inter alveolar and inter radicular septums of all three lower molars, at the same time the alveolus healing after the tooth extraction is happening ineffective because of the damage of resorptive and reparative relations.

**Practical meaning.** The work is a fundamental research. Its results broaden the scientific understanding of the pathogenetic features of the mandibular bone marrow system, the system of nitric oxide monohyRDate, the innate link of local immunity, and the peculiarities of the processes of repair and regeneration of soft tissues of the periodontopextractal alveolar well in the context of experimental diabetes, depending on the time after extraction of the tooth. The obtained results characterize the dynamics of the formation and progression of post-extraction complications on the background of persistent hyperglycemia.

The proposed calculated immunoregulatory index for the contents of CD68 and KI-67 can be used to characterize the direction and balance of the processes of repair and regeneration in the oral mucosa.

New theoretical positions of the thesis are used in the educational process at the Department of General Pathophysiology of the State Medical University “Ternopil National Medical University named after I.Ya. Gorbachevsky Ministry of Health of Ukraine”, Department of Pathophysiology of the Ukrainian Medical Stomatological Academy of the Ministry of Health of Ukraine, Department of Pathological Physiology of the Zaporizhzhya State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Department of Pathological Physiology of the Dniepropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine, Department of Pathological Physiology named after D.O. Alperna of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of

Ukraine, Department of General and Clinical Pathophysiology of them. VV Podvysotsky Odesa National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.

*Key words: experimental diabetes mellitus, tooth extraction, periodontium, reparation, system of nitric monoxide, Ki-67, CD68, rat.*

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ:

1. Абрамов А.В., Ганчев К.С. Зависимость постэкстракционных осложнений от степени тяжести экспериментального сахарного диабета. *Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2014. Т. 14, №3 (47). С. 180-184. (Дисертант виконав набір матеріалу, біохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).

2. Ганчев К.С., Абрамов А.В., Грекова Т.А. Індуцибельна синтаза монооксиду азоту – її роль у формуванні пост екстракційних ускладнень при експериментальному цукровому діабеті». *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2017. Т. 17, вип. 4 (60), ч. 2. С. 29-32. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).

3. Абрамов А.В., Ганчев К.С. Порухення експресії конститутивних ізоформ синтаз монооксиду азоту, як патогенетичний фактор ускладнень репарації після екстракції зуба на фоні експериментального цукрового діабету. *Патологія*. 2018. Т. 15, №2 (43). С. 148-152. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).

4. Абрамов А.В., Ганчев К.С. Кількісний аналіз проліферативної активності тканин пародонту щурів після екстракції зуба на фоні експериментального цукрового діабету. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2019. Т. 18, №1 (67). С. 10-15. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).

5. Abramov A.V., Hanchev K.S., Kadzharian Ye.V. Specific aspects of the radiographic morphometric and densitometric characteristics of mandible of the rats with experimental diabetes mellitus after tooth extraction. *Патологія*. 2019. Т. 16, №1 (45). С. 87-93. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).

6. Ганчев К.С. Характеристика стану вродженої ланки місцевого імунітету тканин пародонту щурів після екстракції зуба на фоні цукрового діабету за

показниками експресії CD68. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2019. Т. 19, вип. 1 (65). С. 52-56.

7. Ганчев К.С. Цукровий діабет, як ключовий фактор постекстракційних ускладнень в стоматології. *Актуальні проблеми сучасної патоморфології та патофізіології* : зб. тез наук. робіт уч. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. уч., м. Запоріжжя, 28-29 трав. 2015 р. Запоріжжя : ЗДМУ, 2015. С. 36-37. (*Дисертант виконав моделювання діабету та видалення зубів щуром, виконав біохімічні дослідження та аналіз їх результатів*).

8. Ганчев К.С. Поздние постэкстракционные осложнения у крыс при экспериментальном сахарном диабете. *Актуальные проблемы современной медицины* : сб. материалов междунар. 70-й научн.-практ. конф. студентов-медиков и молодых ученых, г. Самарканд, 27 мая 2016 г. Самарканд, 2016. С. 296.

9. Абрамов А.В., Ганчев К.С., Василенко Г.В., Ковалев Н.М. Экспериментальный сахарный диабет и постэкстракционные осложнения в стоматологии. *Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції* : матеріали VII Національного з'їзду патофізіологів України, м. Харків, 5-7 жовт. 2016 р. Харків, 2016. С. 26. (*Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів*).

10. Абрамов А.В., Ганчев К.С., Вородєєва Ю.І. Залежність постекстракційних ускладнень при експериментальному цукровому діабеті від ступеню важкості та терміну перебігу патології. *Фізіологія і патологія нейро-імуно-ендокринної регуляції* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Чернівці, 5-6 жовт. 2017 р. *Клінічна та експериментальна патологія*. Т. 16, № 3 (61), ч. 2. С. 8. (*Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів*).

11. Ганчев К.С. Внесок порушення балансу конститутивних ізоформ NOS у формування ускладнень після екстракції зуба на фоні експериментального цукрового діабету. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. до 50-річчя заснування ЗДМУ, м. Запоріжжя, 30 трав. 2018 р. Запоріжжя : ЗДМУ, 2018. С. 3.

12. Ганчев К.С., Абрамов А.В. Баланс ізоформ NOS у пародонті щурів з експериментальним цукровим діабетом : матеріали VII пленуму укр. наук. товариства патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячених 110-річчю з дня народження чл.-кор. АМН України проф. М.Н. Зайка, м. Полтава, 11-12 жовт. 2018 р. Полтава : УМСА, 2018. С. 18-19. (*Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів*).

13. Абрамов А.В., Ганчев К.С. Патогенетичні особливості проліферативної активності тканин пародонту щурів із експериментальним цукровим діабетом після екстракції зуба. *Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології (Вісімнадцяті Данилевські читання)* : матеріали щорічної наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 28 лют. – 1 бер. 2019 р. Харків, 2019. С. 18. (*Дисертантом самостійно проведено аналіз даних та сформульовані висновки, постерна доповідь*).

14. Ганчев К.С. Характеристика проліферативної активності тканин пародонту щурів після екстракції зуба на фоні експериментального цукрового діабету. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до сучасної медицини і фармації* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. студ. та молодих вчених з міжнар. участю, м. Харків, 15 трав. 2019 р. Харків : ХНМУ та НФУ, 2019. С. 59.

15. Ганчев К.С., Абрамов А.В. Динаміка проліферативної активності тканин пародонту щурів після екстракції зуба. *Фізіологічний журнал* : матеріали 20-го з'їзду Укр. фізіологічного тов.-ва з міжнар. участю, присвяченого 95-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка, м. Київ, 27-30 трав. 2019 р. Київ : НАН України, Українське фізіологічне товариство ім. П.Г. Костюка, Наукова Рада Президії НАН України з проблеми «Фізіологія людини і тварин» та Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. 2019. *Фізіологічний журнал*. Т. 65, № 3 (дод.). С. 110. (*Дисертантом самостійно проведено аналіз даних та сформульовані висновки, постерна доповідь*).

## ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень і термінів.....	18
Вступ.....	19
Розділ 1 Сучасні уявлення про вплив цукрового діабету на перебіг запального процесу, механізми репарації та формування ускладнень (огляд літератури).....	26
1.1 Особливості перебігу запального процесу при цукровому діабеті. Патогенетична роль діабетичних макро-, мікроангіопатій, нейропатій та остеоартропатій у формуванні ускладнень при запальному процесі.....	26
1.2 Вплив цукрового діабету на регенерацію тканин.....	32
1.3 Вплив цукрового діабету на тканини пародонту, патогенез формування захворювань ротової порожнини.....	36
1.4 Клінічні особливості проявів та уражень тканин ротової порожнини при цукровому діабеті.....	42
Розділ 2 Матеріал та методи дослідження.....	51
2.1 Матеріал дослідження.....	51
2.1.1 Експериментальні тварини.....	51
2.1.2 Дизайн дослідження.....	52
2.2 Методи та методики досліджень.....	55
2.2.1 Моделювання експериментального стрептозотоцинового діабету та методи оцінки ступеня важкості його перебігу у щурів...	55
2.2.2 Метод екстракції першого нижнього моляру та критерії оцінки формування ранніх та віддалених ускладнень у щурів.....	58
2.2.3 Метод оцінки стану системи монооксиду азоту тканин пародонту у щурів.....	61
2.2.3.1 Підготовка біологічного матеріалу для імуногістохімічного дослідження ізоформного профілю ферменту NOS у м'яких	

тканинах пародонту.....	62
2.2.3.2 Підготовка гомогенатів м'яких тканин пародонту правої напівмандибули щурів та визначення концентрації стабільних метаболітів NO нітритів.....	66
2.2.4 Метод оцінки стану вродженої ланки місцевого імунітету та особливостей протікання регенерації в м'яких тканинах пародонту.....	67
2.2.4.1 Імуногістохімічний метод визначення показників експресії CD68 для оцінки стану вродженої ланки місцевого імунітету тканин пародонту щурів.....	67
2.2.4.2 Імуногістохімічний метод визначення показників експресії Ki-67 для оцінки особливостей протікання процесу регенерації в м'яких тканинах пародонту щурів.....	68
2.2.5 Метод оцінки стану кісткової тканини зубо-щелепного апарату та мінералізації твердих тканин молярів у щурів.....	70
2.2.6 Статистична обробка результатів дослідження.....	72
Розділ 3 Стан системи монооксиду азоту пародонту у щурів експериментальних груп.....	73
3.1 Характеристика ізоформного профілю ферменту NOS у м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп.....	73
3.1.1 Особливості експресії нейрональної NOS у м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп.....	74
3.1.2 Особливості експресії ендотеліальної NOS у м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп.....	77
3.1.3 Особливості експресії індукцибельної NOS у м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп.....	81
3.2 Особливості концентрації нітритів у гомогенатах м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп.....	85
Розділ 4 Характеристика стану вродженої ланки місцевого імунітету та особливостей протікання процесів репарації й регенерації в м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп.....	89



4.1 Імуногістохімічна характеристика стану вродженої ланки місцевого імунітету тканин пародонту щурів експериментальних груп за показниками експресії CD68.....	89
4.2 Імуногістохімічна характеристика особливостей протікання процесів репарації й регенерації в м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп за показниками експресії Ki-67.....	94
4.3 Особливості балансу та спрямованість імунопроліферативних взаємин у м'якихтканинах пародонту щурів експериментальних груп.....	98
Розділ 5 Особливості стану кісткової тканини зубо-щелепного апарату та мінералізації твердих тканин молярів щурів експериментальних груп	103
5.1 Особливості радіологічної щільності тканин інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок, коронки та кореня першого, другого й третього молярів у щурів контрольних груп в різні постекстракційні періоди.....	103
5.2 Особливості радіологічної щільності інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок, коронки та кореня першого, другого й третього молярів у щурів із експериментальним цукровим діабетом.....	106
Розділ 6 Аналіз та узагальнення результатів дослідження.....	112
Висновки.....	136
Список використаних джерел.....	139
Додатки .....	159
Додаток А Акти впровадження.....	159
Додаток Б Наукові праці, опубліковані за темою дисертації.....	165
Додаток В Відомості про апробацію результатів дисертації.....	168

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ,  
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

АФК	– активні форми кисню
ВООЗ	– всесвітня організація охорони здоров'я
ЕЦД	– експериментальний цукровий діабет
ІАРП	– інтеральвеолярні та інтеррадикулярні кісткові перетинки
ІГХ	– імуногістохімічне (дослідження)
ІРМ	– імунореактивний матеріал
ММР	– матриксні металопротеїнази
СОПР	– слизова оболонка порожнини рота
уОд	– умовна одиниця
ХГП	– хронічний генералізований пародонтит
ЦД	– цукровий діабет
CD68	– кластер диференціювання, макросіалін, маркер макрофагів
eNOS	– ендотеліальна ізоформа ферменту NOS
iNOS	– індукцйбельна ізоформа ферменту NOS
Ki-67	– білок-регулятор клітинного циклу, маркер проліферації
nNOS	– нейрональна ізоформа ферменту NOS
NO	– оксид азоту
NOS	– фермент синтаза оксиду азоту
RD	– радіографічна щільність

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** За даними ВООЗ [1], в світі налічується близько чотирьох мільйонів хворих на цукровий діабет (ЦД). За останні 10 років він став причиною смерті більшого числа людей, ніж за всі роки воєн разом узятих [2]. Сьогодні ЦД – це проблема, яка привертає пильну увагу не тільки ендокринологів, а й інших фахівців, в тому числі і стоматологів. Актуальність і соціальна значущість даної проблеми пов'язана із тим, що ранні патологічні зміни відбуваються саме у порожнині рота, й досі стоматологи стають першими, хто діагностує порушення вуглеводного обміну на підставі не лише характерних скарг, а й певної клінічної картини уражень слизової оболонки та тканин пародонту [3-5].

У хворих на ЦД відмічено зниження витривалості пародонту із розвитком діабетичної пародонтопатії, прогресує остеопороз, зменшується здатність до регенерації кісткової тканини, формуються запальні зміни слизової оболонки [6-7]. Вже за декілька місяців після виявлення ЦД практично всі пацієнти мають ознаки пародонтиту [8-9]. Саме ці проблеми хворих на ЦД стають складною перешкодою при плануванні стоматологічних хірургічних маніпуляцій. У роботах багатьох дослідників та лікарів-стоматологів є достатньо свідчень того, що видалення зуба хворому на цукровий діабет може спровокувати запальний процес в порожнині рота [10-11]. Більш того, сама процедура нерідко викликає декомпенсацію основного захворювання. Клінічні аспекти цієї проблеми обумовлені значною частотою постекстракційних ускладнень і розвитком гнійно-запальних процесів [12-13]. Патогенетичні механізми, що призводять до такої ситуації, протікають за типом синдрому взаємного обтяження. При цьому формується своєрідне «хибне коло», при якому порушення обміну і мікроциркуляції уповільнюють перебіг репаративно-регенеративних процесів в альвеолярній лунці, а запалення, що розвивається, негативно впливає на процеси обміну, посилюючи інсулінову недостатність та ацидоз. Такий симбіоз двох

станів створює небезпеку розвитку постекстракційних ускладнень, інфекції щелепно-лицевої ділянки та шиї з ураженням прилеглих тканин [14]. Визначення механізмів їх формування надасть можливість знизити ризик розвитку ускладнень та розробити патогенетично обґрунтовані методи їх лікування.

Необхідно відмітити, що, незважаючи на багаточисельні дослідження та клінічні спостереження, питання окремих ланок патогенезу перебігу запального процесу на фоні цукрового діабету та ускладнень, що формуються після видалення зуба, понині залишаються нез'ясованими. Досі є суперечливими уявлення про стан та роль системи монооксиду азоту у механізмах репаративних процесів та кісткового метаболізму на тлі цукрового діабету. Не доведено взаємозв'язок ускладнень, що формуються при цукровому діабеті після хірургічних втручань, із особливостями ізоформного профілю синтази оксиду азоту (NOS), кісткового метаболізму, стану місцевого імунітету та проліферативних процесів у слизовій оболонці ротової порожнини. Саме ці практично важливі й недостатньо вивчені патогенетичні особливості репарації постекстракційної альвеолярної лунки при експериментальному цукровому діабеті в різні періоди після видалення зуба викликають в останній час великий інтерес дослідників і стоматологів.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація є фрагментом науково-дослідної роботи Навчального медико-лабораторного центру та кафедри гістології, цитології та ембріології Запорізького державного медичного університету МОЗ України: «Механізми реакції тканин з різними регенераторними властивостями на ушкодження», 2016–2019 рр. (№ державної реєстрації 0116U005352).

**Мета дослідження:** визначити патогенетичні особливості репаративного компоненту постекстракційної альвеолярної лунки за умов експериментального цукрового діабету в залежності від терміну після екстракції зуба.

**Завдання дослідження:**

1. Вивчити особливості стану системи монооксиду азоту слизової оболонки ротової порожнини в ділянці першого моляру мандибули у щурів після його

екстракції на 1-у, 7-у та 14-у добу експериментального цукрового діабету (за вмістом, концентрацією та питомою площею імунореактивного матеріалу до відповідної ізоформи ферменту nNOS, eNOS й iNOS та вмістом нітритів у гомогенаті слизової оболонки).

2. Дослідити особливості стану місцевого імунітету слизової оболонки ротової порожнини щурів експериментальних груп за експресією маркера макрофагів CD68 в ділянці першого моляру мандибули у щурів після його екстракції на 1-у, 7-у та 14-у добу експериментального цукрового діабету (за вмістом, концентрацією та питомою площею імунореактивного матеріалу до CD68).

3. Визначити характер проліферативних процесів у слизовій оболонці ротової порожнини щурів експериментальних груп за експресією маркера проліферації Ki-67 в ділянці першого моляру мандибули у щурів після його екстракції на 1-у, 7-у та 14-у добу за експериментального цукрового діабету (за вмістом, концентрацією та питомою площею імунореактивного матеріалу до Ki-67).

4. Оцінити стан кісткової системи зубо-щелепного апарату у щурів після екстракції першого моляру на 1-у, 7-у та 14-у добу експериментального цукрового діабету (за результатами аналізу знімків мандибули та визначенням радіологічної щільності альвеолярних лунок у місці видалення першого моляру, тканин коронки та кореня першого, другого й третього молярів, а також інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок).

5. Довести патогенетичний зв'язок формування постекстракційних ускладнень експериментального цукрового діабету від особливостей стану системи монооксиду азоту, спрямованості репаративних процесів та кісткового метаболізму, з'ясувати основні ланки репаративних процесів та механізми їх порушення при екстракції зуба на фоні цукрового діабету.

*Об'єкт дослідження:* постекстракційні репараційні механізми за умов експериментального цукрового діабету.

*Предмет дослідження:* стан структур пародонту та кісткової тканини зубо-

щелепного апарату, системи монооксиду азоту та проліферативно-репаративних процесів слизової оболонки в ділянці першого моляру мандибули після його екстракції на фоні експериментального цукрового діабету.

*Методи дослідження:* патофізіологічні, імуногістохімічні, біохімічні, радіологічні, морфо-денситометричні дослідження слизової оболонки в ділянці першого моляру мандибули та її кісткової структури для визначення пост екстракційних особливостей проліферативно-репаративних процесів за експериментального цукрового діабету; статистичний аналіз результатів.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше на моделі експериментального цукрового діабету дана динамічна комплексна характеристика стану системи монооксиду азоту, вродженої ланки місцевого імунітету та особливостей перебігу репаративних процесів тканин пародонту, визначені особливості стану кісткової тканини мандибули, мінералізації емалі й дентину молярів без екстракції зуба та в різні періоди після його видалення.

Вперше визначено, що у слизовій оболонці ротової порожнини щурів із цукровим діабетом формується ізозформний дисбаланс ферменту NOS, відмічаються нижчі вихідні значення вмісту та концентрації nNOS та eNOS, але значно вищі – iNOS, на фоні високого вихідного рівню нітритів, концентрація яких зростає після екстракції зуба тільки на 7-у добу, залишаючись сталою до 14-ї доби.

Розширені наукові поняття щодо чисельності CD68-імунопозитивних макрофагів та особливостей проліферативних процесів в слизовій оболонці ротової порожнини після екстракції зуба у щурів з цукровим діабетом, які вказують на те, що цим процесам притаманна розповсюджена макрофагальна інфільтрація та висока проліферативна активність фібробластів. При цьому, через добу після екстракції зуба кількість макрофагів практично не збільшується і стає високою з 7-ї до 14-ї доби постекстракційного періоду, в той час як проліферативна активність фібробластів суттєво збільшується одразу після видалення зуба, продовжує зростати і сягає максимальних значень на 14-у добу постекстракційного періоду.

Подальшого розвитку набуло положення щодо особливостей радіологічної щільності тканин інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок, коронок та коренів першого, другого й третього молярів. Доведено, що в кістковій тканині мандибули цукровий діабет створює умови до посилення резорбтивних процесів, які характеризуються низькими значеннями радіологічної щільності в області кореня 1-го моляру в 2,27 рази, але високими – в ділянці інтеральвеолярно-радикулярних перетинок всіх трьох нижніх молярів, при цьому загоєння альвеолярної лунки після видалення зуба відбувається неефективно через порушення резорбційно-репаративних взаємин.

**Практичне значення одержаних результатів.** Робота є фундаментальним дослідженням. Її результати розширюють наукові уявлення про патогенетичні особливості стану кісткової тканини мандибули, системи монооксиду азоту, вродженої ланки місцевого імунітету та особливостей перебігу регенерації м'яких тканин пародонту постекстракційної альвеолярної лунки та прилеглих молярів за умов експериментального цукрового діабету в залежності від терміну після екстракції зуба. Отримані результати характеризують динаміку формування та прогресування постекстракційних ускладнень на тлі стійкої гіперглікемії.

Запропонований розрахунковий імунорегуляторний індекс за вмістом CD68 та Ki-67 може застосовуватися для характеристики спрямованості та балансу регенеративного процесу в слизовій оболонці ротової порожнини.

Нові теоретичні положення дисертації використовуються в навчальному процесі на кафедрі загальної патофізіології ДВНЗ «Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедрі патофізіології Української медичної стоматологічної академії МОЗ України, кафедрі патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету МОЗ України, кафедрі патологічної фізіології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», кафедрі патологічної фізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету МОЗ України, кафедрі загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України.

**Особистий внесок дисертанта.** Дисертаційна робота є самостійно виконаним дослідженням автора, науковим керівником визначені тема і складена програма дослідження. Дисертант особисто виконав патентно-інформаційний пошук і аналіз літератури, а також патофізіологічні, імуногістохімічні, біохімічні, радіологічні й морфо-денситометричні дослідження матеріалу всіх щурів; провів статистичний аналіз отриманих даних, систематизував та інтерпретував отримані результати; написав всі розділи дисертації; сформулював висновки.

**Апробація результатів дисертації** відбулась на засіданні кафедр патологічної фізіології, патологічної анатомії і судової медицини; нормальної фізіології, мікробіології, вірусології та імунології, анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, гістології, цитології та ембріології, пропедевтичної та хірургічної стоматології Запорізького державного медичного університету МОЗ України 21.05.2019 р.

Основні положення роботи були представлені та обговорені на: всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 50-річчю кафедри патологічної анатомії та кафедри патофізіології ЗДМУ (Запоріжжя, 2015), 70-й науковій конференції студентів-медиків з міжнародною участю «Актуальные проблемы современной медицинской науки» (Самарканд, 2016); Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю: «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції (Харків, 2016), всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 105-річчю від дня народження професора Я.Д. Кіршенבלата (Чернівці, 2017), всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини і фармації», присвяченій 50-річчю заснування ЗДМУ (Запоріжжя, 2018), VII пленумі українського наукового товариства патофізіологів та науково-практичної конференції, присвячених 110-річчю з дня народження чл.-кор. АМН СРСР проф. М.А. Зайка (Полтава, 2018), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології (Вісімнадцяті Данилевські читання) (Харків, 2019), Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та



молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до сучасної медицини і фармації» (15-16 травня 2019 р., м. Харків), 20-му з'їзді Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, присвяченого 95-річчю від дня народження академіка П. Г. Костюка (Київ, 2019).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових праць: 6 статей у наукових фахових виданнях України, серед яких 2 статті у журналах, які індексуються міжнародними наукометричними базами; та 9 тез в матеріалах міжнародних і Всеукраїнських науково-практичних конференцій.

**Структура то обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 169 сторінках машинопису і складається з вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Робота ілюстрована 39 рисунками та 11 таблицями. Список літератури містить 191 джерело (55 кирилицею та 136 латиницею).

# РОЗДІЛ 1

## СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ВПЛИВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ НА ПЕРЕБІГ ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ, МЕХАНІЗМИ РЕПАРАЦІЇ ТА ФОРМУВАННЯ УСКЛАДНЕНЬ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

### **1.1 Особливості перебігу запального процесу при цукровому діабеті. Патогенетична роль діабетичних макро-, мікроангіопатій, нейропатій та остеоартропатій у формуванні ускладнень при запальному процесі**

Сучасний період розвитку діабетології пов'язаний із застосуванням новітніх технологій та методів дослідження на молекулярному і генетичному рівнях, які дозволяють по-новому зрозуміти механізми патогенезу формування діабету та його ускладнень, розробити високоефективні підходи до ранньої діагностики та профілактики.

За останні 30 років спостерігається значний ріст захворюваності на цукровий діабет, особливо у промислово-розвинутих регіонах, де його розповсюдженість складає 5-6 % та має тенденцію до подальшого збільшення. Кожні 10-15 років кількість хворих на цукровий діабет подвоюється. Розрахунки вказують, що у випадку збільшення середньої тривалості життя до 80 років кількість хворих на цукровий діабет перевищить 17-22 % населення [1-2, 15].

Відомо, що цукровий діабет – це хронічне ендокринологічне захворювання, яке пов'язане із порушенням обміну речовин та характеризується формуванням гіперглікемії, «непереносимістю» глюкози через дефіцит інсуліну і порушенням ефективності його дії [1-2].

Окрім широко відомих симптомів, що супроводжують це захворювання, а саме сухість у роті, поліфагія, полідипсія, поліурія із ніктурією, схуднення, загальна слабкість, різке зниження працездатності, зниження гостроти зору та слуху, у всіх хворих на ЦД відмічена знижена опірність інфекціям, швидка

хронізація запальних процесів, висока дисемінація патогенів, при розвитку запалення – ускладнення та обтяження основного захворювання [1-2, 16-17]. Серед головних причин в їх ініціації та прогресуванні розглядаються три головних процеси, що лежать в основі формування судинних ускладнень – діабетична невропатія, мікро- та макроангіопатії [15-18]. Однак, необхідно враховувати результати сучасних досліджень в яких показано, що в основі патогенезу запальних процесів, що формуються у хворих на ЦД лежить не тільки підвищення рівня глюкози та судинні ускладнення, доведено роль комплексу трофічних, метаболічних, ферментативних, мікроциркуляторних та імунологічних порушень [16, 18-19].

Для розуміння ключових ланок патогенезу запалення при ЦД, встановлення особливостей комплексного впливу перелічених вище порушень необхідно розглянути роль кожного фактору окремо.

Ангіопатії при ЦД являють собою універсальне ураження у всіх органах та тканинах. Незважаючи на загальні механізми патогенезу (гіперглікемія, гіперінсулінемія, дисліпідемія) макро- та мікроангіопатій при ЦД, клінічні та патоморфологічні характеристики цих уражень різноманітні [18-19].

Ураження великих судин (макроангіопатії) у хворих на ЦД зустрічається у вигляді атеросклеротичних бляшок, кальцифікуючого склерозу Мінкеберга, дифузного фіброзу інтими. Ці форми зустрічаються у коронарних, мозкових, ниркових артеріях та артеріях кінцівок. Для діабетичної макроангіопатії характерний недостатній розвиток колатералей та дистальне ураження судин [20].

При цукровому діабеті поряд з ураженням судин великого та середнього калібру відбуваються суттєві зміни в артеріолах діаметром 0,3 мм та менше – формується мікроангіопатія. Відомо, що стінка цих артеріол складається з інтими, внутрішньої еластичної мембрани, а середній шар, в основному, з гладком'язових клітин. Функція артеріол полягає в регуляції периферичного кровообігу через зміну периферичного опору в судинах. Однак при ЦД в них розвиваються проліферація та гіалінізація інтими. Це призводить до звуження їх просвіту, що сприяє розвитку ішемії периферичних тканин. Як було зазначено вище при ЦД

цей процес генералізований, відбувається у всіх тканинах та потенціюється більш обмеженою можливістю колатерального кровообігу [21].

У розвитку ангіопатій також грає роль процес неферментативного незворотного глікозилювання білків, колагену, сполучно-тканинних елементів судин [20-23]. Доведено зв'язок прогресування судинних патологій та рівня холестерину, тригліцеридів, бета-ліпопротеїдів [24].

Результати досліджень останніх років чітко вказують на те, що при ЦД недостатність інсуліну та гіперглікемія підвищують рівень окисного або метаболічного стресу при відносному, або абсолютному зниженні активності антиоксидантного захисту. Окисний стрес, в свою чергу, сприяє порушенню ендотеліальної функції судин, погіршує їх релаксацію та тканинну перфузію, сприяє розвитку гіпоксії та цитотоксичності, що, з рештою, посилює й без того підвищений окисний стрес [25].

Протягом останніх років обговорюється та залишається дискутабельним питання про первинність або вторинність патогенезу ангіопатій по відношенню до цукрового діабету. Сьогодні є різні припущення стосовно терміну їх формування. Ряд дослідників розглядають ангіопатії як пізні ускладнення ЦД, інші доводять ранню маніфестацію. Більш того, існують вагомні докази формування судинної патології за декілька місяців або років до розвитку хвороби [26-28]. При цьому всі дослідники приходять до одного висновку, що патогенез ангіопатій багатофакторний, залежить не тільки від рівня глікемії; на їх думку свій внесок у її формування вносить генетична схильність та каскад метаболічних, гормональних, реологічних, електролітних та інших порушень [20-28]. З цього логічно витікає питання про зв'язок запального процесу та діабетичної ангіопатії. Що формується первинно? Як впливають сформовані макро- та мікроангіопатії на перебіг запалення? Дискутабельними залишаються питання перебігу процесів репарації та регенерації судин при запаленні на фоні ЦД.

Ще одним фактором, про який відмічалось раніше, який грає вагому роль у формуванні ускладнень запального процесу на фоні ЦД є нейропатія, або полінейропатія. Частіше при ЦД відбувається множинне ураження периферичних

нервів. Серед характерних синдромів відокремлюють больовий, судомний, міастенічний, вегетативних порушень та порушення всіх видів чутливості [29-30]. Існує декілька гіпотез, які пояснюють патогенез діабетичної полінейропатії:

- гіпотеза накопичення сорбітолу (порушення поліолового шляху) та зниження активності ендотеліальної ізоформи NOS [31-32];
- гексозаміновий шлях [33];
- шлях активації протеїнкінази С [34];
- шлях неферментного утворення глікозильованих білків [35];
- судинна теорія (розвиток мікроангіопатії судин, що живлять периферичні нерви *vasa vasorum*) [21-23].

Саме порушення функцій периферичних нервів при ЦД стають вагомим фактором погіршення процесів репарації та регенерації при запальних реакціях. Доведено, що у хворих третя стадія запалення, проліферативна, характеризується більш повільним перебігом, відбувається загоєнням ран вторинним натягом, проявляється утворенням трофічних виразок та хронізацією процесу [36].

Не менш значну роль у патогенезі ускладнень запальних реакцій при ЦД відіграють ферментативні порушення, що пов'язані як з погіршенням синтезу та секреції антиоксидантних ензимів так і з підвищенням активності прозапальних медіаторів та ферментів [25, 31].

Вже більш 30-років багато дослідників вивчають систему монооксиду азоту, досліджують фізіологічну та патологічну роль її головного продукту оксиду азоту (NO). Історія його вивчення, як біологічної молекули, почалася з відкриття, зробленого Танненбаумом у 1980 році. Він вперше пов'язав утворення нітритів із запаленням. Через вісім років була висунута ще одна гіпотеза про ідентичність фактору розслаблення ендотелію із оксидом азоту [37]. Сьогодні вже добре доведена його роль у регуляції багато чисельних фізіологічних та патологічних процесах [38]. Науковці розглядають оксид азоту, як універсальний регулятор клітинного метаболізму та міжклітинних взаємин. Унікальність цієї молекули пов'язана із тим, що для реалізації його дії не потрібні специфічні рецептори [39]. Коло його ефектів вражає, але всі різноманітні властивості оксиду азоту можна

розподілити на три основні типи – це регуляторний вплив, захисна та пошкоджуючі дії. Саме остання і стає патогенетичним ланцюгом формування пошкоджень та ускладнень при цукровому діабеті [40]. Сьогодні є достатньо фактів про порушення ендотелій-залежної вазодилатації як в експерименті, так і у хворих на ЦД [41-42]. Більш того, науковці асоціюють ці порушення із недостатністю утворення або біодоступності саме оксиду азоту, а кількісні характеристики стану цієї системи мають прогностичне значення і дають можливість оцінити ризики прогресування хвороби та формування ускладнень [43-44]. Ендокринологи схиляються до думки, що серед головних механізмів ендотеліальної дисфункції є зміна активності та/або експресії ендотеліальної NOS, зниження синтезу NO з L-аргініну, порушення чутливості гладком'язових клітин до NO або посилення його деградація за рахунок взаємодії з активними формами кисню (АФК) та іншими продуктами перекисного окислення ліпідів [45-46]. Так експериментальні дослідження на щурах із стрептозотоциновим діабетом показали, що за цієї патології відбувається на ранніх стадіях гіперпродукція NO через високу активність індукцйбельної ізоформи ферменту NOS (iNOS) [47]. Інші дослідники показали, що через гіперглікемію знижується продукція NO за участю ендотеліальної NOS та посилюється її деградація через утворення АФК [48]. Останні, в свою чергу, впливають як на ферментативні, так і не ферментативні джерела оксидативного стресу, в міру посилення якого один з кофакторів eNOS, тетрагідробіоптерин (BH<sub>4</sub>) окислюється, що сприяє роз'єднанню eNOS, коли замість NO фермент продукує су пероксид-аніон, який реагує з NO із утворенням пероксинітриту [49].

Таким чином, при цукровому діабеті за умов значних гормональних та метаболічних змін відбувається активація перекисних процесів, страждає система, що відповідає за продукцію NO, однак через ферментативні зміни спостерігається не тільки порушення утворення та біодоступності монооксиду азоту, відбувається одночасне посилення продукції АФК.

Таким чином, порушення стану системи монооксиду азоту при цукровому діабеті можна розглядати, як важливу патогенетичну ланку формування нейро-

ангіопатії, які, в свою чергу, завжди створюють умови для розвитку цілого комплексу порушень у тканинах, органах та системах. Кісткова тканина не є виключенням. Діабетична остеоартропатія – це ускладнення ЦД, що характеризується деструктивними змінами неінфекційного характеру в кістковій тканині через прогресуючі діабетичні нейропатію та ангіопатію. Ендокринологи за даними клінічного спостереження відмічають патологічні зміни кістково-суглобного апарату у 7-77,8 % випадків, що проявляються остеопорозом хребта та кінцівок, через зниження щільності кісткової тканини та втратою 10 % і більше мінеральних компонентів. Більш того, є ствердження, що зменшення мінерального вмісту кісток стопи виявляється у 100 % хворих на цукровий діабет старших вікових груп [50].

Зменшення мінерального складу кісткової тканини призводить до зниження загальної кісткової маси, відбувається достовірне зменшення трабекулярного та кортикального шарів кістки, знижується рівень кальцію та фосфору в сироватці крові при нормальному рівні паратгормону,  $25(\text{OH})\text{D}_3$ , загального та вільного  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . Слід зазначити, що встановлені зміни не мають прямої кореляції із вмістом глікозильованого гемоглобіну, тригліцеридів у крові та рівнем інсуліну. Це пов'язано із тим, що інсулін не чинить прямого впливу на кісткову резорбцію, але стимулює синтез кісткової матриці, викликає проліферацію та реплікацію остеобластів, підвищує клітинну відповідь на паратгормон. Саме абсолютна або відносна недостатність інсуліну, що проявляється хибним метаболічним контролем, створює умови для формування остеопенії [51].

Також важливий внесок у порушення мінерального обміну вносить гіперглікемія та глюкозурія, через які збільшується екскреція із сечею  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  та фосфору, знижується тубулярна реабсорбція  $\text{Mg}^{2+}$  у нирках. Гіпомагніємія, у свою чергу, погіршує паратиреоїдну функцію та знижує секрецію паратгормону [52].

Таким чином, можна констатувати, що у патогенезі діабетичної остепатії та остеопенії вирішальну роль грають: мікро- та макроангіопатії, гіпоінсулінемія, через це відбувається зниження активності остеобластів, підвищення активності

остеокластів та зменшення білкової матриці кістки; зміна секреції кальцій-регулюючих гормонів та порушення тубулярної реабсорбції у нирках виступають додатковим фактором у прогресуванні діабетичної остеоартропатії.

За даними експериментально-клінічних спостережень взаємодія продуктів кінцевого глікірування з рецепторами кісткових клітин викликає запальні реакції, накопичення продуктів неферментативного перехресного окислення всередині колагенових волокон і прискорення вільнорадикальних реакцій [53] все це негативно впливає на властивості матриці кісткової тканини, порушує колагенові зшивання кістки і може привести до структурних порушень кісткової тканини та неефективній регенерації [54].

## **1.2 Вплив цукрового діабету на регенерацію тканин**

За нормальних умов процес репарації включає у себе цілий ряд послідовних біологічних і молекулярних процесів, які починаються з міграції та проліферації клітин в зону пошкодження із подальшою перебудовою екстрацелюлярного матриксу. Закінченням стає ремоделювання новостворених тканин, нервів та судин. Слід зазначити, що ефективна репарація неможлива без своєчасної та відповідної клітинної відповіді, що полягає в активації кератиноцитів, фібробластів, ендотеліальних клітин, макрофагів і тромбоцитів, які синтезують різні фактори росту і цитокіни, що регулюють рановий процес і призводять до досягнення епітелізації [55-56]. В ході нормального загоєння в рані відбувається послідовні зміни, серед яких можна виділити наступні фази: коагуляція, запалення, міграція клітинних компонентів та проліферація (включаючи перебудову екстрацелюлярного матриксу) і ремоделювання [55-56].

У фазі коагуляції і запалення в умовах локальної ішемії тканин відбувається агрегація тромбоцитів і вивільнення фрагментів фібриногену та інших прозапальних медіаторів, формування фібринового згустку і вивільнення факторів росту і цитокінів, відновлення клітин і хемотаксис, очищення рани. У цих процесах задіяні такі клітини як тромбоцити, нейтрофіли, макрофаги і моноцити. Потім настає фаза проліферації, яка триває кілька днів. Відбувається міграція



кератиноцитів, взаємодія із інтегринами, цитокінами, в результаті чого активізується міграція клітин і продукція екстрацелюлярного матриксу, а також ініціюються процеси неоангіогенезу. Основними клітинами даної фази стають кератиноцити, фібробласти і ендотеліальні клітини. Протягом наступного досить тривалого періоду (до декількох місяців) рана проходить фазу ремоделювання, що включає в себе формування рубця, деградацію екстрацелюлярного матриксу з подальшим скороченням і опором розтягуванню. Необхідно відмітити, що за нормальних умов формується гостре запалення ід час якого в кожен фазу біологічні і клітинні процеси йдуть паралельно, що не характерно хронічному процесу, який завжди формується на фоні цукрового діабету [55-56].

При гострому ранового процесу є чітка хронологія етапів загоєння, у випадку з хронічним рановим дефектом даний баланс порушується. Відмічають, що рани у діабетиків часто «застряють» в одній або іншій фазі, в зв'язку з чим процес загоєння уповільнюється [56-57]. Доведено, що при тривалому перебігу та погано контрольованому цукровому діабеті внаслідок розвитку пізніх мікро- і макросудинних ускладнень знижується експресія місцевих ростових факторів [57]. Гіперглікемія призводить до порушення імунних реакцій, що значно підвищує ризик вторинного інфікування. Глікозилювання білків змінює їх структуру і функцію та грає важливу роль в розвитку мікросудинних ускладнень ЦД [57]. Крім того, дослідження *in vitro* показали, що висока концентрація глюкози гальмує проліферацію фібробластів, ендотеліальних клітин, первинних кератиноцитів шкіри [58]. Фібробласти втрачають чутливість до стимуляції факторами зростання, а ендотеліальні клітини і макрофаги починають виробляти більшу кількість матриксних меалопротеїназ [58].

У пацієнтів із ЦД зафіксовано зниження кількості запальних клітин, відсутність збільшення та міграції епідермальних клітин, звуження просвіту і оклюзія судин капілярного типу на дні рани [55]. Уповільнення фагоцитарної активності лейкоцитів на тлі порушення вуглеводного обміну призводить до порушення міграції нейтрофілів і макрофагів до рани. Ці порушення суттєво підвищують ризик інфікування ранових дефектів у хворих на цукровий діабет

[55]. В ході численних досліджень у пацієнтів із цукровим діабетом встановлено зниження активності або уповільнення синтезу факторів росту [57], порушення формування судинної мережі, зниження активності макрофагів та накопичення колагену, в тому числі порушення бар'єрної функції епідермісу із погіршенням якості грануляційної тканини [55-59].

Матриксні металопротеїнази (ММР) також задіяні в репараційних процесах. Вони беруть участь як у міграції клітин, так і в синтезі факторів росту і в перебудові екстрацелюлярного матриксу. ММР-9 руйнує ланцюги колагену 4 та 7 типів, які є основними компонентами базальної мембрани. ММР-10 (стромелизин-2) «вкорочує» інші, що не містять колаген, складові матриксу [60-61]. В процесі загоєння фібробласти та міофібробласти виробляють тканинні інгібітори металопротеаз, які уповільнюють дію ММР і блокують їх активність [60-61]. Але при цукровому діабеті рівень тканинних інгібіторів низький, що сприяє довготривалій надлишковій активності ММР [60-61].

Цукровий діабет уповільнює загоєння ран, які набувають тривалий, рецидивуючий характер [55-61]. Крім того, спостерігається значне уповільнення і порушення дозрівання грануляційної тканини, її нагноєння, зниження чисельної щільності судин. За літературними даними при вивченні загоєння ран у лабораторних тварин з діабетом виявлено зниження числа поліморфноядерних лейкоцитів, збільшення набряку, зниження кількості фібробластів, генового синтезу, міцності ран, а також зменшення утворення грануляційної тканини [62].

Описані складнощі процесу репарації при цукровому діабеті можна пояснити метаболічними та обмінними порушеннями, зниженням тканинного кровообігу, розвитком місцевої гіпоксії, ацидозу тканин, мікробної контамінації [57].

Сьогодні є дуже багато фактів про роль системи оксиду азоту в процесі репарації ран [6-8]. Так, в дослідженнях Смірнова А.В. та співав. (2014) спостерігали більш повільне загоєння ран у груп, які отримували блокатор eNOs, що вони пов'язують із фізіологічною роллю ендотеліальної ізоформи ензиму [63]. На їх думку позитивна роль NO, що утворюється eNOs, у загоєнні ран може бути

також пов'язана з його функціональним впливом на активацію ангиогенезу, модуляцію цитокінового каскаду, клітинну проліферацію [63]. NO діє як хемотаксичний фактор на фібробласти і активує фіброплазію, проявляє антимікробну активність за рахунок активації фагоцитозу, гальмує розвиток радикальних окислювальних реакцій в першій фазі ранозагоєння [63]. У фазі проліферації NO бере участь у синтезі та складанні молекул колагену [64]. При регенерації сполучної тканини основними клітинами, що забезпечують створення структурної основи для формування нової тканини, є фібробласти. Зрілі фібробласти – найактивніші в функціональному відношенні, виконують регуляторну, синтетичну функції при ремоделюванні тканин [55]. NO стимулює міграцію фібробластів і макрофагів, підвищує васкуляризацію, колагенову регенерацію та епітелізацію [55]. Тоді як блокада eNOS викликає більш виражені патологічні процеси в рані, тривалу репарацію і негативну динаміку ранозагоєння [63-64].

Також добре відома роль активації індукцибельної iNOS в процесі загоєння ран [64]. В цьому випадку при наявності запального процесу оксид азоту продукується у великій кількості, зв'язуючись з вільними радикалами кисню, перетворюється в цитотоксичний пероксинітрит (ONOO<sup>-</sup>). Пероксинітрит аніон (ONOO<sup>-</sup>) пригнічує активність мітохондріальних ферментів, викликає ушкодження клітинних та інших білків (ДНК, РНК ін.), як наслідок – викликає енергетичну дестабілізацію, мутації і загибель клітини [63-64]. Результатом таких модифікацій стає інгібування ферментів дихального ланцюга, циклу Кребса, синтезу ДНК, посилення окисного стресу та окислення ліпідів [64], що призводить до ще більш значних судинних порушень та погіршенню загоєння діабетичних ран. При блокаді iNOS в експерименті було встановлено зниження інтенсивність продукції пероксинітриту та спостерігали не тільки скорочення часу репарації шкірних ран, але і більш позитивну динаміку ранозагоєння в групах тварин, які отримували аміногуанідин (блокатор iNOS) [63].

Таким чином, аналіз наукових фактів стосовно особливостей процесів репарації на фоні цукрового діабету показав, що неефективність загоєння ран багатofакторна тому потребує детального дослідження.

### **1.3 Вплив цукрового діабету на тканини пародонту, патогенез формування захворювань ротової порожнини**

В роботі неодноразово було стверджено, що ЦД являє собою проблему не тільки для ендокринологів, кардіологів та терапевтів, останні роки все гостріше стає питання стоматологічного здоров'я хворих. Саме тому у 2009 році Міжнародна федерація діабету (IDF) опублікувала «Керівництво з гігієни порожнини рота для людей з діабетом», яке заохочує впровадження догляду за порожниною рота у лікуванні діабету [65]. За думкою фахівців-діабетологів розуміння лікарем-стоматологом ускладнень у ротовій порожнині, які найчастіше виникають у пацієнтів із ЦД та усвідомлення основного патогенезу цієї хвороби має важливе значення для успішного впровадження «Керівництва». Нажаль переважна більшість досліджень ускладнень у ротовій порожнині пов'язується виключно із високим рівнем глюкози. Однак, сьогодні вже відомо багато інших патогенетичних механізмів, які сприяють розвитку діабетичних ускладнень, включаючи гіперглікемію, інсулінорезистентність, дисліпідемію, гіпертонію, імунну дисфункцію та багато інших [16-21].

Ще один критерій, яких впливає та формує ускладнення ЦД – це стаж хвороби. Встановлена залежність між давністю та тяжкістю перебігу ЦД і станом тканин пародонту. При обстеженні хворих на ЦД вже на першому році захворювання виявляються захворювання пародонту майже у 20 %, тоді як у хворих із 10-15 річним стажем хвороби – майже у 100 % [66]. Результати обстеження хворих на ЦД тривалістю до одного року виявили зміни в навкол зубних тканинах у 20 % хворих, а при давності 10-15 років – у всіх обстежених хворих [67].

У хворих хронічним генералізованим пародонтитом на фоні ЦД виявлені виражені порушення у мікроциркуляторному руслі пародонту у вигляді місцевого

тромбогеморагічного синдрому, що призводить до підвищення проникності стінки капілярів, порушення трофіки пародонту, прогресуванню дистрофічних та запальних процесів у ньому. Саме порушення мікроциркуляції в пародонті при ЦД розглядають як один з головних факторів розвитку запалення [68].

Варто зазначити, що не у всіх хворих спостерігається пряма залежність від терміну хвороби та тяжкістю ураження тканин пародонту, в літературі описані випадки ранньої діагностики ЦД за станом тканин пародонту і слизової оболонки порожнини рота. Автори спочатку у хворих встановили виразний пародонтит із подальшим підтвердження у них сформованого ЦД [69].

Судинні ураження – найважливіша ознака ураження органів і систем при ЦД [20-21]. На даний час в патогенезі хронічного генералізованого пародонтиту (ХГП) при ЦД провідне місце відводиться ангіопатії судин пародонту, при цьому в ураженні дрібних судин головна роль належить диспротеїнемії. Виражені клінічні симптоми захворювань пародонту при ЦД, особливо в період декомпенсації захворювання, автори пояснюють порушеннями обмінних процесів та інтоксикацією організму, зміною судинної проникності, при якій рух рідини і білка переважає в напрямку з крові в тканини [70]. У хворих на ЦД зменшується стійкість стінок капілярних судин порожнини рота, інтенсивність змін при цьому залежить від давності захворювання [66-68].

На думку більшості дослідників, патологія пародонту при ЦД є локальним проявом діабетичної мікроангіопатії. Були виявлені ультраструктурні зміни кровоносних капілярів ясен. Описування біопсійного матеріалу м'яких тканин пародонту показало, що базальний шар капілярів потовщений, розпушений, розшарується на окремі анастомозуючі смужки, по периферії його речовина без чітких меж переходить в пластівчастий матеріал, подібний плазмі крові. В просвіті більшості капілярів – сладжування і гемолізовані еритроцити, в просвіті венул – тромбоцитарно-фібринові обтуруючі мікротромби [71-73].

Таким чином, у хворих на хронічний генералізований пародонтит на тлі ЦД виявлені виражені порушення в мікроциркуляторному руслі пародонту, у вигляді місцевого тромбогеморагічного синдрому, що призводить до порушення

проникності стінки капілярів, трофіки пародонту, прогресуванню дистрофічних і запальних процесів в ньому. Порушення гемодинаміки в пародонті при ЦД є одними з факторів розвитку запалення [74].

В останні роки з'явилися нові дані про патогенез мікроангіопатій. Якщо традиційно вважалося, що пусковим моментом і основним фактором прогресування діабетичних мікроангіопатій є порушення вуглеводного обміну, то з сучасних позицій в патогенезі мікроангіопатій істотну роль відіграють імунні механізми. На імунний механізм судинних ушкоджень вказує підвищений вміст активованих Т-лімфоцитів з HLA-RD [75].

При діабетичних ангіопатіях відзначається підвищена концентрація імуноглобуліну IgG. Отже, ряд дослідників вважають, що розумне використання імуносупресорів може затримати прогресування мікроангіопатій [76-77].

Особливістю протікання запального процесу у ротовій порожнині при ЦД є рання хронізація процесу [78-79]. Багаточисельні клінічні спостереження показали, що частіше у хворих на ЦД спостерігається хронічний генералізований пародонтит різного ступеня тяжкості, що підтверджується дослідженнями Т.М. Єловікової (1989), яка виявила у 98,8 % хворих на ЦД I типу переважно генералізовані ураження пародонту і прямий кореляційний зв'язок між тяжкістю ураження пародонту й тяжкістю і давністю ЦД I типу [78-80]. Ці хворі нерідко стають постійними пацієнтами стоматологів, а кожен другий хворий на ЦД рано чи пізно потребує надання хірургічної стоматологічної допомоги.

Як відомо, при ЦД в патологічний процес залучаються майже всі органи і системи людини. Однак для лікарів-стоматологів-ортопедів особливий інтерес представляють дані про взаємозв'язок між вмістом глюкози в крові і атрофією альвеолярного відростка (частини) та розширенням лінії періодонту [80].

Безсумнівно при ЦД уражаються кістки скелету, відповідно кісткова тканина верхньої та нижньої щелепи залучається у патологічний процес. Це пов'язано із тим, що інсулінова недостатність пригнічує активність остеобластів, викликає метаболічний ацидоз та підвищує активність остеокластів [54, 81]. Рентгенологічно при ЦД виділяють остеопороз, деструкцію і остеоліз. Остеопороз

– це генералізоване захворювання, при якому зменшується тільки маса кістки при незмінному мінеральному складі. У хворих на ЦД остеопороз розвивається набагато раніше та прогресує з часом. Відзначається невідповідність клінічних та рентгенологічних симптомів: при помірно вираженому гінгівіті переважають зменшення об'єму кісткової речовини із формуванням глибоких пародонтальних кишень [82].

Більшість стоматологів відзначають, що на фоні цукрового діабету клінічною особливістю перебігу захворювань пародонту є переважання запального компонента, а рентгенологічною картиною у вигляді дифузного остеопорозу при різного ступеня атрофії кісткової тканини [83-84].

Аналіз рентгенівських знімків хворих показав, що у фронтальному відділі переважає горизонтальний тип резорбції кісткової тканини, в бічних відділах розсмоктування кісткової тканини навколо зуба більшою мірою має воронкоподібний, чашоподібний, кратероподібний характер [85]. Відзначають, що подібна клініко-рентгенологічна картина ХГП спостерігається у хворих, які не отримували систематичного лікування [66-72].

Ще у 1966 році Жижина Н.А. за допомогою радіоактивних ізотопів встановила, що кісткова тканина щелеп дуже рано й різко реагує на порушення інкреторної функції підшлункової залози. Більш того, довела, що зміни білкового і мінерального обміну в кістках та зубах відображають тяжкість перебігу діабету [86].

За даними ряду авторів виявлено, що характерною особливістю ураження пародонту у дітей, хворих на ЦД при рентгенологічному обстеженні стало ураження кісткової тканини при клінічно інтактному пародонті, що характеризується деструктивними процесами у кістці альвеолярної частини, остеолордозом вершин міжзубних перегородок, що вказує на часту невідповідність клінічних та рентгенологічних даних [87-88].

Деякі дослідники, досліджуючи процеси гемостазу, виявили, що у хворих на ЦД знижені фібринолітична активність крові та вміст вільного гепарину на тлі підвищеної концентрації фібриногену [89-90]. Вважають, що при ЦД процеси

згортання крові превалюють над процесами фібринолізу і знаходяться у прямій залежності від тяжкості його перебігу [89-90].

Існує думка, що адреналін посилює згортання крові, а інсулін діє протилежним чином. Більшість авторів все ж вважають, що при ЦД при наявності вогнища хронічної інфекції виникає порушення процесу гемостазу в бік гіперкоагуляції. На це вказують посилення адгезивних властивостей тромбоцитів, поява тромбонебезпечної фракції фібриногену В і зниження фібринолітичної активності крові [89-90]. Інші автори стверджують, що після будь-якого хірургічного втручання коагулююча активність крові підвищується [91-92].

Таким чином, вище викладене свідчить про те, що поки у хворих на ЦД не ліквідовано джерело гнійної інфекції, медикаментозна терапія не в змозі стабілізувати гіперкоагуляцію крові або усунути претромбоз. Це слід враховувати при обґрунтуванні показань до операції, виборі її обсягу, методів знеболення.

Гістохімічне дослідження слизової оболонки міжзубних сосочків у хворих на ЦД свідчить про наявність порушення вуглеводного і білкового обміну речовин, аналогічного порушенню обміну речовин в інших органах і тканинах організму і виявляються ускладненнями у вигляді кетоацидозу, ангіопатії і полінейропатії [70-74].

Порушення обмінних процесів при ЦД призводять до різних змін в зубо-щелепній системі. У 95 % хворих зустрічається ксеростомія, у 5 % – солодкуватий присмак. У хворих похилого віку через недостатнє виділення слини, слизова стає сухою, матовою і восковою, язик гладкий з вираженою атрофією сосочків [65-68].

Бактеріологічне дослідження мікрофлори слизової оболонки порожнини рота дітей, хворих на ЦД, виявили більш часту вегетацію асоціацій умовно-патогенних бактерій. Переважали асоціації гемолітичного стрептококу й дріжджоподібних грибів роду *Candida*, мікрофлора пародонтальних кишень була представлена монокультурами гемолітичного стрептококу й грамнегативних бактерій [93-94].



Наявність дріжджоподібних грибків *Candida* є одним з сигналів зниження реактивності організму і порушення вуглеводного обміну [94]. На тлі порушення вуглеводного і транскапілярного обміну, підвищеної проникності сполучнотканинних структур, гіпоксії, зниження стійкості тканин пародонту зростає роль мікрофлори ясенної борозенки [95].

Висока концентрація глюкози в ясенній рідині і слині у хворих на ЦД сприяє розмноженню мікрофлори, швидкого утворення зубного каменю [96].

На думку ряду дослідників, при цукровому діабеті патологія пародонту характеризується посиленою проліферацією мікроорганізмів в пародонтальній кишені. Вага бактеріальної маси у здорових осіб при пародонтиті в пародонтальній кишені – 16 мг, у хворого ЦД 1 типу – 35-200 мг [97]. У тих випадках, коли загальна маса бактерій або вірулентність деяких їх видів досягає певного критичного рівня, відбувається їх проникність у тканини пародонту. Можливо, цьому сприяє фонова патологія, порушення в імунній системі [98] що збігається з даними інших авторів, які стверджують, що мікрофлора патологічних зубоясенних кишень у хворих на ЦД більш вірулентна [99-100]. Було доведено, що мікрофлора пародонтальної кишені викликає більш важкі запально-деструктивні зміни в пародонті, ніж у хворих, які не страждають цією патологією [99-100].

Ряд дослідників вважає, що у хворих з цукровим діабетом 1 типу частота захворювання пародонту тим вище, чим вище рівень глікемії, незважаючи на постійний стоматологічний контроль; інші – що при контрольованій глікемії зміни в пародонті зустрічаються не частіше, ніж в осіб без ЦД [101-103].

Стан твердих тканин зуба і пародонту у хворих на діабет досить добре висвітлено в літературі. Відмічають, що гігієнічний стан порожнини рота у хворих на ЦД в 2,5 рази гірший, ніж у осіб, які не страждають на дане захворювання [104-105].

За даними деяких авторів за відсутності симптоматичного лікування частота ураження пародонту досягає 50 %. Клінічними ознаками захворювання пародонту при діабеті в дитячому віці є кровоточивість ясенних сосочків, ясенний край має

яскраво-червоне забарвлення, а також, можливе вибухання грануляцій з патологічних ясенних кишень [106-107]

Низка авторів вважає, що тяжкість захворювання діабетом обернено пропорційна ураженості зубів карієсом. Частота ураження карієсом, його локалізація залежать від тривалості захворювання [108-109]. Захворювання твердих тканин зубів некаріозного походження у хворих на ЦД зустрічаються не частіше, ніж у здорових [108-109].

Більшість дослідників вважають, що у хворих на ЦД відбувається швидке відкладення зубного каменю м'якої консистенції жовтуватого кольору. Наявність рясних зубних відкладень і нальоту пояснюється високою концентрацією глюкози в слині (від 0,44 до 6,33 мг глюкози на 100 мл слини, при нормі від 0,24 до 3,33 мг), що сприяє швидкому розмноженню бактерій і утворенню зубного каменю [110]. Крім того, зниження лужних резервів організму при ЦД також сприяє підвищеному відкладанню зубного каменю [111].

#### **1.4 Клінічні особливості проявів та уражень тканин ротової порожнини при цукровому діабеті**

Інтегральний антропологічний підхід у медицині дозволяє оцінити механізм взаємного обтяження хвороб внутрішніх органів і порожнини рота. Обличчя і порожнина рота – це унікальна зона, де «перехрещуються» системи дихання і травного тракту, сконцентровані основні органи відчуттів і мовлення, добре розвинуті крово- і лімфообіг [112]. З формуванням і прогресуванням хвороб порожнини рота пов'язані наявність і характер перебігу хронічних загальносоматичних хвороб – перш за все цукрового діабету, у формування стоматологічної патології.

Відомі вітчизняні роботи та численні дослідження за кордоном, присвячені цій проблемі, однак особливості проявів різноманітних форм цукрового діабету в ротовій порожнині, взаємозв'язок зі станом компенсації вуглеводного обміну вивчені недостатньо, а отримані результати досить суперечливі та належним чином не систематизовані; триває пошук найбільш результативних методів

діагностики, засобів профілактики, гігієни і лікування проявів цукрового діабету в ротовій порожнині [65].

Сучасними дослідженнями встановлено, що при різних захворюваннях органів і систем організму відбуваються істотні функціональні та морфологічні зміни в пародонтальному комплексі [8-9, 65, 69].

Взаємозв'язок між загальносоматичною патологією і станом органів порожнини рота обумовлений порушеннями метаболізму, гемодинаміки, імунологічними, нейрорегуляторними порушеннями і змінами біоценозу [8-9, 65, 69].

Щорічне збільшення числа хворих на цукровий діабет визначає медико-соціальну і клінічну значущість цієї проблеми, у тому числі й в стоматології. ЦД – одне з найтяжчих системних захворювань, що впливає на стан порожнини рота. При цьому зміни з боку щелепно-лищевої ділянки є множинними та залежать від рівня глікемічного контролю, а також, тривалості ЦД [101-103]. Водночас, як підкреслюють F. Llambés та співавт. (2015), перебіг патологічного процесу в пародонті залежить не лише від декомпенсації діабету, але й визначається розвитком судинних та інфекційно-запальних ускладнень захворювання [113].

За даними епідеміологічного дослідження Є.В. Румянцевої та співавт. (2014), рухливість зубів відмічена у 84 %, кровоточивість ясен – у 96 %, наявність карієсу – у 100 %, відсутність зубів – у 92 % хворих на ЦД. Необхідність у протезуванні у віковій групі 35-44 років становить 78,3 %, в 45-64 роки протезування потребують 95,4 % хворих на ЦД, а у віці 65-74 років – 100 % [7].

Результати більшості сучасних досліджень підтверджують наявність причинного зв'язку між ЦД і станом пародонту [68-69, 71-72]. За висновками R. A.Schallhorn (2016), діабетична пародонтопатія має свою морфологічну специфіку та значно відрізняється від інших клінічних форм захворювань пародонту [114]. Також доведено, що запальні захворювання пародонту у хворих на ЦД впливають на загальний діабетичний статус пацієнта [12-14]. Встановлено, що у хворих на ЦД у порівнянні з пацієнтами без ендокринної патології відрізняються всі клініко-лабораторні показники, а саме:

- сухість і пастозність слизової оболонки порожнини рота (СОПР),
- гіпосалівація, що сприяє збільшенню зубних відкладень,
- збільшення загальної фібринолітичної активності слини сприяє підвищенню кровоточивості ясен
- збільшення частоти захворювань пародонту і більш висока інтенсивність його ураження.

За даними клінічних спостережень ризик розвитку пародонтиту в осіб, що страждають на ЦД в 2,8-3,4 рази вищий, ніж в осіб з необтяженим анамнезом [115]. Так, за даними М. Hong та співавт. (2016), захворювання пародонту виявлено у 43,7 % дорослих з ЦД (віком старше 30 років), що суттєво вище, ніж у пацієнтів без ЦД (25 %) [116]. Хронічний генералізований пародонтит різного ступеня тяжкості виявляється у 98,8 % хворих на ЦД [117].

Мікроангіопатії, гіперглікемія, гіпосалівація, імунна недостатність та інші зміни є причиною розвитку більшості захворювань порожнини рота у хворих на ЦД. Це приводить до зниження витривалості пародонту і іноді звичайне жувальне навантаження стає для зубів травматичним, обумовлюючи збільшення кількості звернень хворих на ЦД за стоматологічною допомогою. Найперші та найчастіші симптоми у хворих на цукровий діабет – це сухість у роті (ксеростомія), сухість губ унаслідок дегідратації на тлі поліурії, що особливо виражено в пацієнтів із латентним перебігом або неконтрольованим (декомпенсованим) діабетом. Крім цього, спостерігається ослаблення салівації (зокрема з привушних слинних залоз, що згодом у 10-25 % хворих призведе до їх компенсаторного збільшення). До основних проявів цукрового діабету на слизовій оболонці порожнини рота належать кандидоз, який може мати вигляд кандидозного стоматиту, ромбоподібного глоситу, ангулярного хейліту, і некандидозні ураження: ерозивно-виразковий стоматит, хронічний рецидивуючий афтозний стоматит, червоний плескатий лишай і лейкоплакія [118-119].

Кандидоз – це один із найпоширеніших мікозів, які ускладнюють перебіг цукрового діабету; його відносять до «діабетидів» – специфічних симптомів діабету. Патогенетичні паралелі кандидозу СОПР при цукровому діабеті

зумовлюються такими чинниками: порушення різноманітних видів обміну викликає дисбаланс синтезу макроергічних сполук, унаслідок чого змінюється синтез антитіл, знижується фагоцитарна активність лейкоцитів і макрофагів, послаблюється проникність тканин, слабшають компенсаторні реакції організму, бар'єрні функції шкіри і слизових [118-120].

У порожнині рота при кандидозі слизова губів, щік, язика, піднебіння суха, стоншена, яскраво-червоного кольору, з білими вогнищами, які утворюють м'які утвори [119-120]. При знятті нашарувань оголюється легко кровоточива поверхня із застійною гіперемією й атрофією ниткоподібних сосочків [120].

При ангулярному хейліті (мікотична заїда), що формується на тлі цукрового діабету, спостерігаються стоншення червоної облямівки губ та інтенсивна гіперемія зони Кляйна, в кутиках рота інфільтровані, довго не загоювані дефекти [121-122].

Особливостями мікозів при цукровому діабеті є пряма залежність їх тяжкості та частоти виникнення від ступеня тяжкості діабету і характеру його лікування, можливість регресу та ремісії при компенсації вуглеводного обміну дієтою або інсулінотерапією, виникнення рецидивів при підвищенні рівня цукру в крові. Діабетичні мікози характеризуються винятково довготривалим перебігом та схильністю до ураження тканин у глибину – з утворенням виразок, без запальних інфільтратів, із в'ялими грануляціями, збільшенням регіонарних лімфовузлів, іноді можливе виникнення абсцедуючих інфільтратів і гангренозного розпаду [118-122].

Нерідко у хворих на цукровий діабет діагностується хронічний рецидивуючий афтозний стоматит. При цьому рецидиви хвороби збігаються із загостренням перебігу цукрового діабету. В імунологічній відповіді при хронічному рецидивуючому афтозному стоматиті основну роль відіграють порушення регуляторної функції Т-лімфоцитів, що призводить до дискоординації хелперної та супресорної їх активності, внаслідок чого знижується структурно-функціональна резистентність СОПР до дії факторів зовнішнього середовища [123].

Чільне місце серед проявів цукрового діабету на СОПР займає червоний плесканий лишай. При цукровому діабеті можуть спостерігатися всі клінічні форми червоного плескатоного лишая залежно від перебігу основної хвороби. У літературі описаний синдром Grispan, який характеризується одночасною наявністю артеріальної гіпертензії, цукрового діабету й ерозивно-виразкової форми червоного плескатоного лишая. Розвиток синдрому пов'язують із діенцефальною патологією, яка призводить до судинних порушень, характерних при червоному плескатоному лишая та цукровому діабеті. У механізмі поліморфної симптоматики при виникненні синдрому Grispan суттєву роль відіграють нейроендокринні порушення [124].

У численних публікаціях серед проявів цукрового діабету на СОПР диференціюють лейкоплакію у вигляді широких вогнищ, які надають слизовій оболонці матовості, віскоподібності; пізніше утворюються бляшки, швидко прогресуючі, з утворенням бородавчастих розростань, тріщин і виразок за постійної гіпосалівації. Дуже часто при цукровому діабеті виявляють симптом Кір'юхіної-Bethman – ксантохромію на СОПР у вигляді дрібних ліпоїдних бляшок [118-119, 125].

Статистичний аналіз щодо зміни кольору і стану слизової оболонки язика при цукровому діабеті наведений у працях Соколовського В.Д. і Мунтян В.Г. [126]. За даними авторів, зі 157 хворих 65 осіб мали тяжку і 92 – легку і приховану форми цукрового діабету. Колір слизової та язика в 76 пацієнтів був буряковим, у 43 – рожевим, у 26 – блідо-рожевим, у 12 – яскраво-червоним. Дослідниками було встановлено, що буряковий колір СОПР і язика характерний для поєднання цукрового діабету і серцево-судинних порушень. Сухий яскраво-червоний язик і яскраво-червона слизова характерні для хворих із ЦД у прекоматозному або коматозному стані.

Інтенсивність ураження зубів карієсом у хворих на цукровий діабет дітей також не відрізняється від однолітків. Разом з тим, досі немає однозначної оцінки частоти карієсу зубів при цукровому діабеті [127].

Науковці на чолі з Karjalainen K.M. [128] виявили, що чим раніше починають лікувати цукровий діабет, тим повільніше відбувається розвиток карієсу. Антимікробна захисна здатність змішаної слини в осіб з інсулінозалежним типом цукрового діабету не порушується. Автори прийшли до такого висновку на підставі нормального рівня вроджених антимікробних факторів слини і лізоциму, лактоферину, пероксидази, мієлопероксидази, тіоціонату, гіпотіоціаніту [128].

Відомо, що рафіновані вуглеводи – це фактор ризику виникнення карієсу. Усунення їх із раціону у хворих на цукровий діабет знижує і ризик виникнення карієсу. Крім того, цукрозамінники порівняно із сахарозою мають значно слабший карієсогенний ефект: наприклад, аспартаму притаманний антикарієсогенний ефект. Це пов'язано з інгібуючою дією цукрозамінників відносно змішаної мікрофлори [129].

У деяких хворих на цукровий діабет спостерігається підвищена чутливість шийок зубів. Вивчення початкових сенсорних порогів у хворих на цукровий діабет показало, що величини цих порогів корелюють із рівнем цукру в крові. Зниження вмісту глюкози в крові супроводжується значним послабленням чутливості до болю, а його підвищення – посиленням больової чутливості. Після стоматологічного втручання в 60 % хворих із цукровим діабетом підвищуються сенсорні пороги [130].

За результатами досліджень, ризик виникнення пародонтиту в дітей із цукровим діабетом у 2,5-3,5 рази вищий, ніж у осіб із необтяженим анамнезом. Ураження пародонту зафіксовано в 51,2 % дітей, які хворіють на цукровий діабет. Загальні патогенетично значущі для захворювань тканин пародонту і діабету зміни такі: ангіопатії, перш за все на рівні судин мікроциркуляторного русла; порушення обміну речовин, перекисного окислення ліпідів, трофіки; остеопороз та остеоліз; порушення колонізаційної резистентності; вторинний імунодефіцит та аутоагресія. У дітей з інсулінозалежним цукровим діабетом, окрім ксеростомії та гіпосалівації, визначається прогресування запальних змін у тканинах пародонту, підвищуються інтенсивність і швидкість утворення зубного нальоту. Значне

прогресування запальних явищ у тканинах пародонту, ризик активації вторинної мікробної та грибкової інфекції спостерігаються в період різних змін рівня глюкози в крові. При розвитку запального процесу в пародонті в дітей виявляється облігатно-анаеробна мікрофлора, представлена видами *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella melaninogenica*, *Streptococcus intermedius*; збільшується кількість грибів *Candida albicans* за одночасного зменшення кількості дифтероїдів і лактобацил, що є прогностичним фактором при гінгівіті [131].

Визначається підвищення вмісту продуктів тіобарбітурової кислоти й активності субстратозалежних антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази і каталази) в ротовій рідині у дітей, які страждають на цукровий діабет. Також були виявлені зміни стану прооксидантно-антиоксидантної системи ротової рідини зростають із збільшенням тривалості перебігу діабету. Простежувався дисбаланс у системі місцевого імунітету і підвищення киснеутворювальної функції нейтрофільних лейкоцитів у порожнині рота, пригнічення їхньої фагоцитарної активності, спад активності лізоциму і зниження вмісту секреторного імуноглобуліну А в ротовій рідині. Системний клітинний імунітет характеризувався дефіцитом Т-лімфоцитів супресорної субпопуляції та підвищенням рівня В-лімфоцитів [132].

У дітей підліткового віку, які хворі на генералізований пародонтит на фоні цукрового діабету, виявляють порушення балансу у процесах ремоделювання кісткової тканини; посилення резорбції кістки (висока екскреція кальцію і неорганічного фосфору та оксипроліну з сечею) з деяким зниженням рівня кісткоутворення, зниження рівня остеокальцину в сироватці крові [133].

За даними деяких дослідників, у дітей із запально-дистрофічними процесами в тканинах пародонту при цукровому діабеті виявлялись атерогенні порушення плазмових ліпідів, які розглядали як фактор ризику виникнення мікроциркуляторних порушень у пародонті [134].

У СОПР при ЦД 1 і 2 типів розвиваються виражені зміни мікросудин і порушення гемодинаміки, значна дистрофія і атрофія епітеліоцитів [6-7, 71-74].



Морфогенез патологічних змін представляється як первинна діабетична мікроангіопатія, що обумовлює метаболічні порушення з розвитком дистрофічних і атрофічних змін усіх структурних компонентів СОПР і розвитком діабетичної пародонтопатії, що є первинно дистрофічним процесом [135]. Порушення мікро- і макроциркуляції в тканинах і органах пацієнтів з ЦД з віком і стажем діабету набувають генералізованого характеру, що позначається на тканинах пародонту [65-68]. Mirescu з співавторами (2016) встановили, що експериментальний алоксановий діабет посилював морфологічну картину перебудови тканин ясен: відзначалися виражені розлади кровообігу, десквамація епітелію, вrostання епітеліальних відростків у власну пластинку, з'являлася велика кількість запальних інфільтратів [136].

Мікроангіопатії при ЦД призводять до підсилення резорбтивних процесів у кістковій тканині, а потовщення базальної мембрани мікросудин утрудняє надходження мікроелементів та дифузії кисню у тканини пародонту, що на тлі вже існуючих метаболічних порушень гальмує репаративні процеси в альвеолярній кістці та слизовій оболонці [83-84, 137].

Особливий інтерес викликають дані про патологічні зміни в кістковій тканині при ЦД, зв'язок між гіперглікемією і атрофією альвеолярної частини. Відмічають, що інсулінова недостатність знижує активність остеобластів, синтез колагену і ферментів, необхідних для утворення кісткової тканини [138]. Також недостатність інсуліну підвищує активність остеокластів, які збільшують розсмоктування кісткової тканини. Одночасно з цим у пацієнтів з ЦД порушено всмоктування кальцію в кишечнику, збільшена секреція паратгормону, що приводить до зниження рівня остеокальцину і ще більше сприяє резорбції кісткової тканини. Результатом мікроангіопатії стає порушення живлення кісткової тканини [138].

Добре відомо, що у хворих на ЦД значно раніше, ніж в осіб без патології вуглеводного обміну, розвивається остеопороз і зменшується здатність до регенерації кісткової тканини [50-54, 139].

На тлі гіпоксії і зниження стійкості тканин пародонту до дії місцевих несприятливих чинників зростає роль мікроорганізмів, а висока концентрація глюкози в ясенній рідині у хворих на ЦД сприяє розмноженню мікроорганізмів і швидкому утворенню зубного каменю. Знижена опірність до пародонтопатогенних бактерій у пацієнтів з ЦД може бути обумовлена порушенням хемотаксису і фагоцитозу нейтрофілів, що властиво діабету [118-125].

Н.А. Шевкуною (2016) показано, що у пацієнтів з ЦД 2 типу спостерігалися зниження фагоцитарного індексу і резервної активності нейтрофілів, що може свідчити про глибокі порушення імунітету і доцільність застосування методів імунокорекції в регуляції запальних процесів при ортопедичному лікуванні хворих на ЦД знімними протезами [140].

Слід зазначити, що наявність ЦД у стоматологічних хворих утруднює усі види втручань в порожнині рота, що обумовлено ураженням мікросудинної системи, резорбцією кісткової тканини, прогресуючою атрофією альвеолярної відростка (частини), зниженням місцевих імунних реакцій, підвищеною больовою чутливістю СОПР, що призводить до зниження витривалості пародонту [6-7, 71-74, 77-81].

Таким чином, аналіз наукових джерел засвідчує наявність суттєвих патологічних змін тканин пародонту у хворих на цукровий діабет, які наростають в динаміці хвороби та обтяжують її перебіг. Тому планування стоматологічного лікування хворих на ЦД на кожному клінічному етапі повинно ґрунтуватися на чіткому розумінні усіх патогенетичних ланок. Саме ці складні ланцюги патогенезу запальної реакції у слизовій оболонці ротової порожнини на фоні цукрового діабету і на сьогодні ще недостатньо вивчені. Окремі механізми та стадії запальної реакції нез'ясовані тому потребують більш детального дослідження.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дисертаційна робота виконана на базі кафедри патологічної фізіології та навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету МОЗ України.

#### 2.1 Матеріал досліджень

##### 2.1.1 Експериментальні тварини

Експериментальні дослідження були проведені на 120 статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar віком 8-10 місяців. Щури, що були використані в експериментах, отримані з розплідника Об'єднання ветеринарної медицини ПП «Біомодельсервіс» міста Києва (Україна). Всі дослідження проведені в осінне-зимовий період у віварії Запорізького державного медичного університету. Тварини перебували при температурі повітря 20-25 °С. Тривалість світлового дня становила з 7-00 до 19-00 години. Доступ до їжі та води був вільним.

Експериментальну частину дослідження виконували в суворій відповідності з національними «Спільними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджуються з директивою Ради 2010/63EU Європейського парламенту і Ради від 22 вересня 2010 року з захисту тварин, що використовують для наукових цілей (Council Directive 2010/63EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes). Комісією з питань біоетики Запорізького державного медичного університету МОЗ України (протокол № 7 від 08.05.2019) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

В останній день експерименту тварин з 18:00 позбавляли їжі і наступного дня з 10:00 виводили з експерименту методом одномоментної декапітації під наркозом (тіопентал натрію 40 мг/кг внутрішньочеревно). Матеріалом

дослідження слугували екзартикульовані праві напівмандибули та м'які тканини в ділянці першого моляру або в зоні його екстракції.

### 2.1.2 Дизайн дослідження

Для дослідження патогенетичних особливостей репаративного компонента постекстракційної альвеолярної лунки на тлі експериментального цукрового діабету в залежності від терміну після екстракції зуба самців-щурів було відібрано та розподілено на вісім груп по 15 тварин у кожній (табл. 2.1).

Таблиця 2.1 – Розподіл експериментальних щурів по групах

№ групи	Назва групи	Кількість тварин	Характеристика групи
1	2	3	4
1	Контроль	15	екстракція зуба не проводилась
2	Контроль-1	15	екстракція 1-го нижнього моляру праворуч, виведення з експерименту через 1 добу після екстракції
3	Контроль-7	15	екстракція 1-го нижнього моляру праворуч, виведення з експерименту через 7 діб після екстракції
4	Контроль-14	15	екстракція 1-го нижнього моляру праворуч, виведення з експерименту через 14 діб після екстракції
5	Діабет	15	моделювання експериментального стрептозотоцинового діабету протягом 21-ї доби, екстракція зуба не проводилась
6	Діабет-1	15	моделювання експериментального стрептозотоцинового діабету протягом 21-ї доби. На 21-у добу діабету екстракція 1-го нижнього моляру праворуч, виведення з експерименту через добу після екстракції

Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4
7	Діабет-7	15	моделювання експериментального стрептозотоцинового діабету протягом 21-ї доби. На 21-у добу діабету екстракція 1-го нижнього моляру праворуч, виведення з експерименту через 7 діб після екстракції
8	Діабет-14	15	моделювання експериментального стрептозотоцинового діабету протягом 21-ї доби. На 21-у добу діабету екстракція 1-го нижнього моляру праворуч, виведення з експерименту через 14 діб після екстракції

У роботах багатьох дослідників та лікарів-стоматологів є достатньо свідчень того, що видалення зуба у хворого на цукровий діабет може спровокувати запальний процес в порожнині рота. Більш того, сама процедура нерідко викликає декомпенсацію основного захворювання. Клінічні аспекти цієї проблеми обумовлені достатньою частотою постекстракційних ускладнень і розвитком гнійно-запальних процесів серед хворих на цукровий діабет [12-13]. Патогенетичні механізми, що призводять до такої ситуації, протікають за типом синдрому взаємного обтяження. При цьому формується своєрідне «хибне коло», при якому порушення обміну і мікроциркуляції уповільнюють перебіг репаративно-регенеративних процесів в альвеолярній лунці, а запалення, що розвивається, негативно впливає на процеси обміну, посилюючи інсулінову недостатність та ацидоз. Такий симбіоз двох станів створює небезпеку формування постекстракційних ускладнень, розвитку інфекції щелепно-лицевої ділянки та шиї з ураженням сусідніх просторів і областей [10-14]. Саме для детального вивчення особливостей перебігу та механізмів формування ускладнень після екстракції зуба на тлі цукрового діабету було проведено комплекс імунологічних, радіографічних та біохімічних досліджень, а саме:

- для встановлення особливостей та залежностей формування постекстракційних ускладнень були проаналізовані та досліджені наслідки видалення зуба у щурів із ЕЦД на 1-у, 7-у та 14-у добу постекстракційного періоду шляхом щоденного спостереження протягом 1-14 днів (термін спостереження залежав від характеристики групи (див. табл. 2.1): проводилось щоденне зважування, на 1-у, 7-у та 14-у добу після екстракції зуба бралася кров зі стегнової вени для біохімічних досліджень (визначали концентрацію глюкози за допомогою стандартних тест-смужок Test Strip II на глюкометр Glucocard (ARKRAY Inc., Японія), креатиніну, сечовини на біохімічному автоматичному аналізаторі Prestige-24i (Японія), здійснювався збір сечі для визначення рН за допомогою візуальних тест-смужок «рН-тест» (ПВП «Норма», м.Київ), проводився зовнішній огляд постекстракційної лунки;

- для аналізу стану системи монооксиду азоту тканин пародонту щурів із ЕЦД після видалення зуба, визначення у них особливостей ізоформного профілю ферменту NOS та концентрації кінцевих метаболітів NO було проведено у гістологічних зрізах м'яких тканин пародонту кількісне імуногістохімічне дослідження концентрації, вмісту та питомої площі розподілу nNOS, eNOS і iNOS та визначено вміст нітритів у гомогенатах слизової оболонки з регіону видалення зуба;

- для дослідження стану вродженої ланки місцевого імунітету, особливостей протікання процесів репарації й регенерації в різні терміни постекстракційного періоду було проведено імуногістохімічне визначення концентрації та вмісту маркера макрофагів CD68 та проліферації Ki-67 у слизовій оболонці в ділянці першого моляру мандибули у щурів з ЕЦД;

- для оцінки стану кісткової тканини зубо-щелепного апарату та мінералізації твердих тканин молярів у щурів із ЕЦД після екстракції першого моляру на 1-у, 7-у та 14-у добу було проаналізовано радіовізіографічні знімки правої напівмандибули та визначено радіологічну щільність альвеолярної лунки видаленого 1-го моляру, коронок молярів та їх коренів, інтеральвеолярних й інтєррадикулярних кісткових перетинок альвеолярної частини.

Сформований комплекс досліджень дозволив довести патогенетичний зв'язок формування постекстракційних ускладнень на тлі експериментального цукрового діабету від особливостей стану системи монооксиду азоту, місцевого імунітету, регенеративного процесу та кісткового метаболізму, з'ясувати основні ланки регенерації та механізми її порушення при екстракції зуба на тлі цукрового діабету.

## **2.2 Методи та методики досліджень**

### **2.2.1 Моделювання експериментального стрептозотоцинового діабету та методи оцінки ступеня важкості його перебігу у щурів**

Для моделювання експериментального цукрового діабету у щурів була використана широко відома та детально досліджена багатьма науковцями модель стрептозотоцинового діабету [141]. Саме ця експериментальна модель показала відповідність її патогенезу механізмам розвитку цукрового діабету у людини [142]. Сьогодні вже встановлено, що введення стрептозоточину, який володіє специфічною  $\beta$ -цитотоксичною дією, призводить до порушення продукції АТФ у мітохондріях інсуліноцитів [143]. За даними експериментальних досліджень було визначено, що введення стрептозоточину провокує дозозалежне збільшення продукції перекису водню ( $H_2O_2$ ) [144] і активних форм кисню, які не тільки залучаються до процесу розвитку діабету, а й грають роль у виникненні ускладнень. Все це супроводжується утворенням розривів у молекулі ДНК, її фрагментації, активацією процесів ядерного полі-АДФ-рибозилування і зниженням рівня внутрішньоклітинного НАДФ, що, в свою чергу, призводить до пошкодження та загибелі  $\beta$ -клітин [143-144].

На думку багатьох авторів специфічна  $\beta$ -цитотропна дія стрептозоточину пов'язана із хімічною особливістю цієї сполуки – він являє собою 2-дезоксиметилнітрососечовину-глюкозопіранозу. При цьому нітрососечовина, що входить до його складу, забезпечує токсичну дію препарату, а 2-дезоксиглюкоза – його селективну  $\beta$ -цитотропність [145].

В проведеному дослідженні для формування груп тварин із експериментальним цукровим діабетом були відібрані 80 щурів-самців віком 8-10 місяців. Критеріями включення до експериментальної групи були рівень глікемії натще у межах

еуглікемічного діапазону, вага – 250-270 г. Збільшена кількість щурів у групах була пов'язана із можливою їх загибеллю під час або після індукції ЕЦД.

У відібраних щурів середня вага становила  $248,1 \pm 6,35$  г. Рівень глюкози натще досліджували у щурів після 10-14-годинного голодування вранці о 7.30 глюкозооксидазним методом за допомогою стандартних тест-смужок Test Strip II на глюкометрі Glucocard (ARKRAY Inc., Японія). Середня концентрація глюкози становила  $4,06 \pm 0,22$  мМ/л. Стрептозотоцин (SIGMA Chemical, США) вводили тваринам 4 груп (Діабет; Діабет-1, Діабет-7 та Діабет-14) внутрішньоочеревинно в дозі 50 мг / кг, розчиненої в 0,5 мл 0,1 М цитратного буферу (рН 4,5) безпосередньо перед введенням. Така доза стрептозотоцину не призводила до розвитку абсолютної інсулінової недостатності, але викликала пошкодження  $\beta$ -клітин із наступним розвитком інсуліту [141-145]. З цього моменту починався відлік терміну розвитку діабету – 21 доба.

Для оцінки динаміки формування ЕЦД всім тваринам з першої доби його індукції проводили вимірювання рівня глюкози натще, а саме на 1-у, 3-тю, 7-у та 21-у добу. Щури в яких формувалися тяжкі ускладнення (гіпоглікемія, критична гіперглікемія, гострі ураження нервової системи) – не включалися до експериментальних груп. На 21-у добу кількість щурів, що увійшли до 4-х експериментальних груп становила – 60 тварин по 15 у кожній.

Додатково для аналізу ускладнень, що формуються при цукровому діабеті на фоні видалення зуба у тварин було досліджено в плазмі крові рівні креатиніну та сечовини за допомогою біохімічного автоматичного аналізатора Prestige-24i (Японія). У всіх тварин здійснювався збір сечі для визначення її рН, значення водневого показника якого показує кількісний вміст іонів водню у сечі. Значення рН визначалося за допомогою візуальних тест-смужок «рН-тест» (ПВП «Норма», м. Київ).

Аналіз обраних показників важкості перебігу ЕЦД в різні терміни постекстракційного періоду показав, що екстракція зуба на тлі цукрового діабету істотно обтяжує стан тварин. Відзначено було прогресивне збільшення рівня глікемії, зниження ваги щурів, підвищення плазмового рівня креатиніну і сечовини, розвиток ацидозу (табл. 2.2).



Таблиця 2.2 – Динаміка ваги та біохімічних параметрів у постекстракційному періоді у щурів експериментальних груп (M±m)

Досліджувані показники	Експериментальні групи	
	Контроль (n=15)	Діабет (n=15)
До екстракції		
Вага тварин, г	248,1±6,35	198,1±4,89 <sup>1</sup>
Глюкоза плазми, мМ/л	4,06±0,22	22,65±0,88 <sup>1,2</sup>
Креатинін плазми, мкМ/л	57,3±2,28	83,46±3,9 <sup>1</sup>
Сечовина плазми, мкМ/л	4,61±0,24	9,55±0,57 <sup>1</sup>
рН сечі	6,9±0,12	5,6±0,09 <sup>1</sup>
1-а доба постекстракційного періоду		
Вага тварин, г	230,5±5,26	185,0±5,91 <sup>1</sup>
Глюкоза плазми, мМ/л	4,24±0,2	24,46±1,01 <sup>1</sup>
Креатинін плазми, мкМ/л	60,7±1,52	99,21±4,22 <sup>1</sup>
Сечовина плазми, мкМ/л	4,93±0,25	10,4±0,42 <sup>1</sup>
рН сечі	6,85±0,14	4,85±0,1 <sup>1</sup>
7-а доба постекстракційного періоду		
Вага тварин, г	233±7,26	178,4±4,95 <sup>1</sup>
Глюкоза плазми, мМ/л	4,44±0,17	24,2±0,93 <sup>1</sup>
Креатинін плазми, мкМ/л	63,2±2,48	93,53±3,36 <sup>1</sup>
Сечовина плазми, мкМ/л	4,71±0,23	10,69±0,67 <sup>1</sup>
рН сечі	7,0±0,12	4,65±0,18 <sup>1</sup>
14-а доба постекстракційного періоду		
Вага тварин, г	235±7,3	144,5±2,44 <sup>1,2</sup>
Глюкоза плазми, мМ/л	4,09±0,24	27,3±0,9 <sup>1,2</sup>
Креатинін плазми, мкМ/л	64,3±2,31	110,52±4,9 <sup>1</sup>
Сечовина плазми, мкМ/л	5,37±0,28	15,59±1,11 <sup>1</sup>
рН сечі	7,1±0,14	4,45±0,15 <sup>1</sup>

Примітка. (<sup>1</sup>) – достовірні відмінності параметрів ( $p_{st} < 0,05$ ) по відношенню до відповідного контролю.

Проведені попередні дослідження показників важкості перебігу ЕЦД показали, що видалення зуба суттєво обтяжує перебіг ЦД, призводить не тільки до значного збільшення рівня глікемії. Встановлено суттєве підвищення креатиніну та сечовини у плазмі крові, що необхідно розглядати як показник зниження видільної функції нирок. Низький рівень рН сечі характеризував формування метаболічного ацидозу, тоді як прогресивне зниження ваги тварин майже на 40 % у порівнянні із тваринами із ЕЦД яким не проводили екстракцію зуба свідчило про катаболічну спрямованість метаболізму.

### **2.2.2 Метод екстракції першого нижнього моляру та критерії оцінки формування ранніх та віддалених ускладнень у щурів**

Екстракцію перших нижніх молярів здійснювали в шістьох експериментальних групах: трьох контрольних (Контроль-1, Контроль-7 та Контроль-14) та трьох із ЕЦД на 21-у добу розвитку цукрового діабету (Діабет-1, Діабет-7 та Діабет-14).

Тваринам екстракцію зуба проводили під тіопенталовим наркозом (доза 40 мг/кг) з додатковою місцевою інфільтраційною анестезією препаратом «Убістезин» (ЗМ Дойчланд ГмбХ, Німеччина) (рис. 2.1).



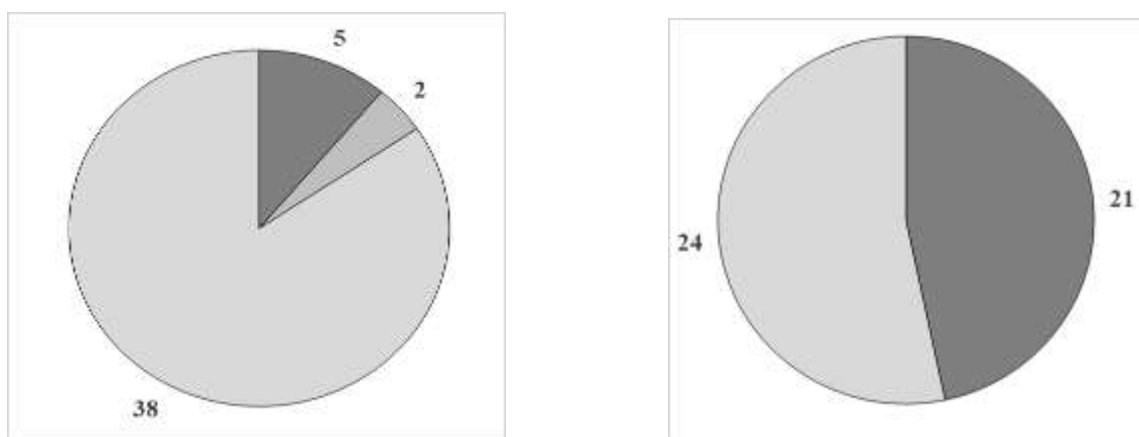
Рисунок 2.1 – Проведення екстракції першого нижнього моляру правої напівмандибули у щура контрольної групи (Контроль-1).

Летальності в першу добу після операції в групах контролю не було, в групах щурів із ЕЦД загинуло 4 тварини. Після екстракції зуба тварини утримувалися по одній у клітках при вільному доступі до води та їжі.

У щурів груп, яким проводили видалення зуба, протягом першої доби спостерігали за виникненням ранніх постекстракційних ускладнень: тривалої (більше 30 хв.) або рясної кровотечі, уповільненого тромбоутворення (тривала кровотеча без утворення згустків).

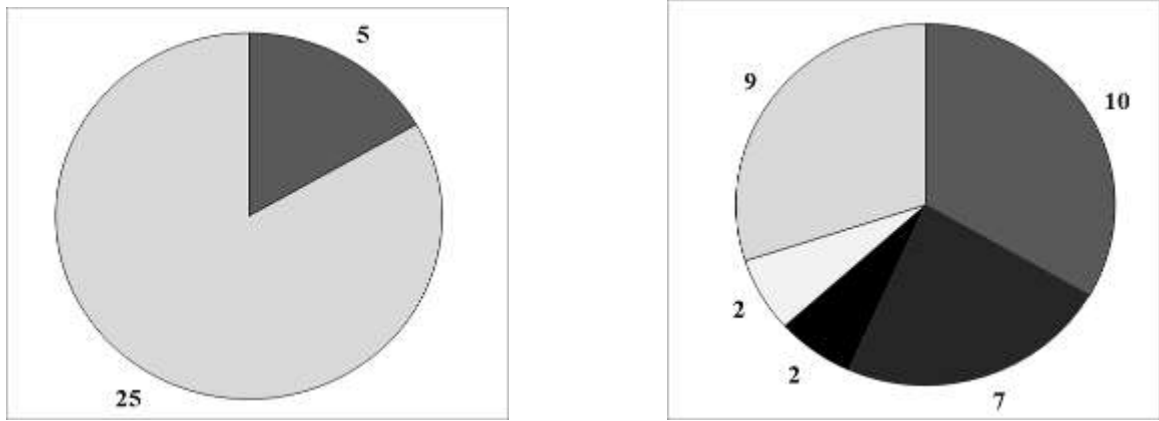
З 3-ї доби у щурів груп Контроль-7, Контроль-14, Діабет-7 та Діабет-14 спостерігали за виникненням віддалених постекстракційних ускладнень: розвитком альвеоліту, абсцесу, флегмони, остеомієліту, віддалених кровотеч.

Аналіз постекстракційних ускладнень у тварин з ЕЦД показав, що ранні ускладнення розвивалися безпосередньо після проведення операції та протягом першої доби, тоді як віддалені – частіше, з 2-3-ї доби. Необхідно відмітити, що кількість як ранніх так і віддалених ускладнень була значно більшою у групі щурів із ЕЦД (рис. 2.2 та 2.3).



Примітка. Позначення відповідають легенді: ■ – тривала кровотеча,  
 ■ – рясна кровотеча, □ – без ускладнень;

Рисунок 2.2 – Ранні ускладнення у експериментальних щурів, що пов'язані із патологією постекстракційної альвеолярної лунки.



Примітка. Позначення відповідають легенді: – віддалена кровотеча, – абсцес, – флегмона, – остеомієліт, – без ускладнень

Рисунок 2.3 – Віддалені ускладнення у експериментальних щурів, що пов'язані із патологією постекстракційної альвеолярної лунки.

Спостереження за ранніми та віддаленими ускладненнями, що формувалися після видалення зуба у щурів експериментальних груп показало, що у тварини контрольних груп в невеликій кількості відмічалися ранні ускладнення, але вже через добу практично всі вони зникали. Серед віддалених ускладнень у 5 тварин спостерігалася кровотеча на 3-4-у добу, що могло бути пов'язано із прийняттям їжі та бажанням гризти прути клітки. У 3 контрольних тварин були встановлені на 7-14-у добу наявність локалізованого запального процесу у регіоні альвеолярної лунки (див. рис. 2.2 та 2.3).

Зовсім інша картина формування ускладнень після видалення зуба спостерігалася у щурів із ЕЦД. Так майже у кожного щура відмічалися ті чи інші ранні ускладнення (див. рис. 2.2), які з часом не тільки не зменшувалися, а, навпаки, наростали. Більш того, для зупинення кровотечі 8 тваринам довелося обробляти лунку перекисом водню та покласти гемостатичну губку. На 7-14-у добу характер ускладнень змінювався через активний розвиток запальних процесів (див. рис. 2.3).

Таким чином, отримані попередні дані показали, що постекстракційні ускладнення, як ранні так і віддаленні завжди розвиваються у щурів із ЕЦД, характеризуються тяжким перебігом та високою варіабельністю патологій

(остеомієліт, флегмона, абсцес). Їх прогресування суттєво обтяжує перебіг основного захворювання ЦД та призводить до значного зниження ваги щурів і підвищення рівня глікемії. Виразність ацидозу, підвищення концентрацій креатиніну і сечовини також вносять свій внесок у погіршення стану тварини та формування ускладнень після видалення зуба.

### **2.2.3 Метод оцінки стану системи монооксиду азоту тканин пародонту у щурів**

Вибір для дослідження особливостей механізмів репарації та регенерації тканин пародонту на фоні ЦД після хірургічних втручань стану локальної системи монооксиду азоту був пов'язаний із важливими та унікальними властивостями молекули NO – відомого регулятора процесів репарації, регенерації, іннервації, трофічних процесів, але, за надмірного утворення – індуктора апоптозу, пошкодження клітин, резорбції кісткової тканини та активатора тромбоутворення [146]. Саме розуміння співвідношення цих процесів дасть можливість прогнозувати та попереджувати негативні ефекти надлишку NO при ЦД.

Аналіз стану системи монооксиду азоту м'яких тканин пародонту щурів експериментальних груп проводили використовуючи комплекс імуногістохімічних та біохімічних методик. Об'єктом дослідження у тварин була тканина пародонту нижньої щелепи праворуч. Досліджуваними параметрами системи NO були ізоформний профіль ферменту NOS, а саме співвідношення, вміст, концентрація та питома площа ізоформ nNOS, iNOS та eNOS у гістологічних зрізах м'яких тканин пародонту правої напівмандибули й концентрація кінцевого метаболіту NO нітритів у гомогенатах м'яких тканин пародонту правої напівмандибули.

### 2.2.3.1 Підготовка біологічного матеріалу для імуногістохімічного дослідження ізоформного профілю ферменту NOS у м'яких тканинах пародонту

Одразу після декапітації тварин мандибулу дезартикулювали зі скронево-нижньощелепних суглобів, пересікали симфіз та відсепарували м'які тканини пародонту з латеральної поверхні щік молярної частини та внутрішньої язичної поверхні у ділянці 1-го моляру, або альвеолярній лунці після його видалення. Виділені тканини розміщували в фіксуєчому суміші Буена на 20 годин при кімнатній температурі. Після 2-годинного відмивання пікринової кислоти в проточній холодній воді м'які тканини пародонту проводили у висхідних концентраціях етанолу від 50 % до 100 %, розчинах етанол / ксилол, ксилол, ксилол / парапласт ( $t = +37^{\circ}\text{C}$ ), на 1 годину розміщували в рідкому парапласті ( $t = +56^{\circ}\text{C}$ ) і потім укладали в парапластові блоки. Для гістологічного дослідження з біологічного матеріалу м'яких тканин пародонту на ротаційному мікротомі MICROM HR-360 (Microm, Німеччина) виготовляли серійні 5 мкм зрізи.

Для дослідження показників експресії ізоформ NOS гістологічні зрізи розподіляли на 3 групи:

- для визначення показників експресії нейрональної синтази оксиду азоту зрізи інкубували з кролячими IgG до nNOS (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200;
- для визначення показників експресії ендотеліальної синтази оксиду азоту зрізи інкубували з кролячими IgG до eNOS (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200;
- для визначення показників експресії індукцибельної синтази оксиду азоту зрізи інкубували з мишачими IgG до iNOS, кон'юговану з FITC (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200.

Скельця з нанесеними первинними антитілами тримали в полімерних фіксаторах при ( $T = +4^{\circ}\text{C}$ , 24 години). Потім тричі по 10 хв. відмивали фосфатним буфером 0,1 М (pH 7.2).

Після холодової інкубації з первинними антитілами та триразового відмивання їх надлишку фосфатним буфером на скельця першої (для визначення

nNOS) та другої (для визначення eNOS) груп наносили вторинні мишачій IgG до повної молекули IgG кроля, кон'югованими з FITC (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200 і тримали при ( $T = +37^{\circ}\text{C}$ , 45 хв.), промивали три рази по 10 хв. фосфатним буфером й укладали в суміш гліцерин/фосфатний буфер (9:1).

Скельця з третьої групи з антитілами до iNOS кон'югованими із FITC після триразового промивання у фосфатному буфері укладали в суміш гліцерин/фосфатний буфер (9:1).

Мікрозображення м'яких тканин пародонту, які було отримано на мікроскопі AXIOSKOP, через високочутливу відеокамеру СОНУ 4922 (СОНУ Inc., США) вводилося в комп'ютерну систему цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) із використанням високоемісійного світлофільтру 38 HE (Zeiss, Німеччина) при спектрі збудження 450-490 нм, спектрі емісії – 500 нм. При цьому виключався ефект "вигорання" препарату, пов'язаний з поступовим руйнуванням молекули FITC під впливом тривалого ультрафіолетового опромінення. Введене зображення з імунофлуоресценцією оцифровували за денситометричною шкалою з 256 градаціями сірого кольору. Аналіз зобрРДаження проводився за допомогою пакета прикладних програм VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина) (рис. 2.4 та 2.5).

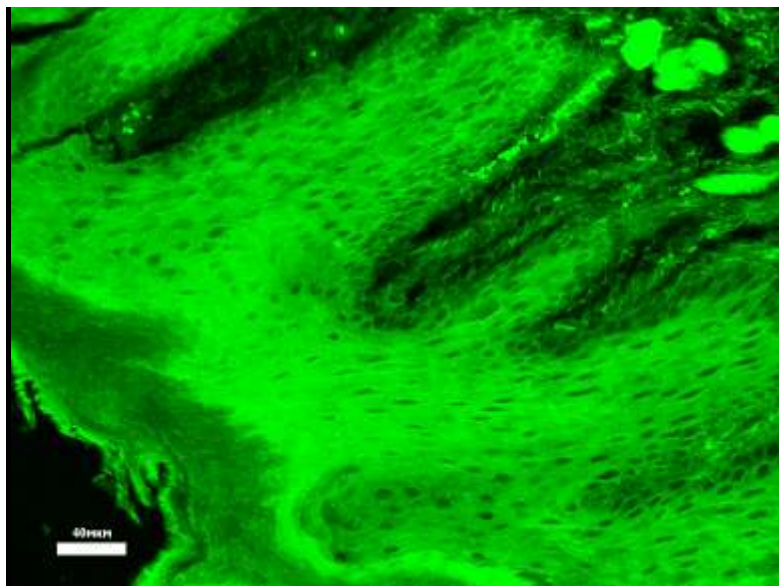


Рисунок 2.4 Експресія ендотеліальної ізоформи NOS у пародонті щура контрольної групи. Реакція непрямой імунофлуоресценції з антитілами до eNOS.

Ок. x40

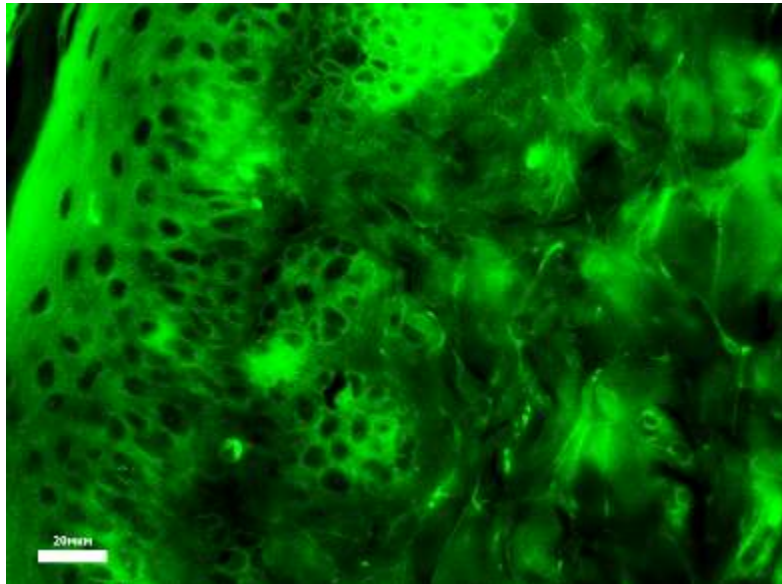


Рисунок 2.5 – Експресія нейрональної ізоформи NOS у пародонті щура контрольної групи. Реакція непрямой імуофлуоресценції з антитілами до nNOS.

Ок. х40

В мікрозображеннях, які були отримані при дослідженні м'яких тканин пародонту, в інтерактивному режимі проводилося визначення зони значущої флуоресценції на яку накладалася «маска». Це дозволяло відділити зону значущої флуоресценції у відповідному регіоні. В нашому випадку це дозволило виключити порожні області в яких була відсутня тканина та регіони крупних судин. В ході автоматичного оцифрування зображення визначали: відносну площу матеріалу, імунореактивного (ПІМ) до однієї з ізоформ NOS (%) у площі «маски» (100 %) (2.1), вміст (2.2) і концентрацію ферменту в питомій площі (2.3), яку займає імунореактивний матеріал до відповідної ізоформи NOS (Одiф). Дослідженню підлягали не менше ніж 50 полів зору з кожної серії.

У ході автоматичного цифрового аналізу зображення м'яких тканин пародонту показники експресії ізоформ ферменту NOS визначали за формулами:

1. Питому площу імунореактивного матеріалу до досліджуваної ізоформи NOS (SIM, %), яку розраховували за формулою:

$$SIM = (aSIM \cdot 100 \%) / SM \quad (2.1),$$

де aSIM – абсолютна площа флуоресценції, імунореактивної до ізоформи ферменту NOS, мкм<sup>2</sup>;

SM – абсолютна площа «маски», мкм<sup>2</sup>.



2. Сумарний вміст імунореактивного матеріалу до ізоформи ферменту в площі «маски» із урахуванням фонового світіння (BIM, Одif), який розраховувався за формулою:

$$\text{BIM} = s\text{BIM} - (\text{Ff} \cdot \text{SM}) \quad (2.2),$$

де sBIM – сумарний вміст флуоресценції в площі «маски», Одif;

Ff – середня фонова флуоресценція, Одif/мкм<sup>2</sup>;

SM – абсолютна площа «маски», мкм<sup>2</sup>.

3. Концентрацію імунореактивного матеріалу до ізоформи ферменту (K<sub>im</sub>, Одif/мкм<sup>2</sup>), яку розраховували за формулою:

$$K_{im} = |\log(\text{Ff} \cdot \text{BG}_{grey} / \text{cof}_{grey} \cdot \text{ROI}) / \log 10| \quad (2.3),$$

де Ff – середня фонова флуоресценція, Одif/мкм<sup>2</sup>;

F<sub>im</sub> – середня значуща флуоресценція, Одif/мкм<sup>2</sup>.

На підставі даних показників судили про особливості експресії ізоформ синтази монооксиду азоту, їх локалізацію в м'яких тканинах пародонту, визначали сумарний вміст та концентрацію ферменту в площі зрізу пародонту.

### **2.2.3.2 Підготовка гомогенатів м'яких тканин пародонту правої напівмандибули щурів та визначення концентрації стабільних метаболітів NO нітритів**

Після декапітації щурів з дезартикульованих та видалених правих напівмандибул відсепаровували м'які тканини пародонту у ділянці 1-го моляру, або альвеолярній лунці після його видалення. Фрагмент тканини зважували, відокремлювали навішування вагою 200 мг та гомогенізували в сольовому ізотонічному середовищі 0,15 М розчину KCl при t = +4 °C за допомогою гомогенізатора Heidolf Instruments D-91126 (ser. № 091002770, Німеччина) в співвідношенні тканина/сольовий розчин 1:40. Після цього методом диференціального центрифугування при 15000g на центрифугі Sigma Laborzentrifugen D-37520 (ser. № 141672, Німеччина) виділялася цитозольна фракція. Цитозольну фракцію негайно акуратно відбирали в сухі пластикові пробірки і заморожували при температурі – 50 °C для подальших досліджень.

У підготовлених гомогенатах м'яких тканин пародонту визначали рівень нітритів за якісною реакцією з реактивом Грісса [147]. Для цього до 2,0 мл гомогенату додавали 1,0 мл реактиву Грісса, попередньо приготованого шляхом розведення сухого реактиву, та витримували 15 хв. при температурі  $t=+27\text{--}+30\text{ }^{\circ}\text{C}$  у термостаті. Потім проби центрифугували при 3000 об./хв. протягом 20 хв. Паралельно з експериментальною готували контрольну пробу, що складалася з 2,0 мл дистильованої води й 1,0 мл реактиву Грісса. Експериментальну та контрольну проби залишали на 15 хв. при кімнатній температурі, після чого спектрофотометрували при довжині хвилі 540 нм. Отримані показники експериментальної екстинції перераховували за значеннями калібрувального графіка та виражали в мкм/л.

#### **2.2.4 Метод оцінки стану вродженої ланки місцевого імунітету та особливостей протікання регенерації в м'яких тканинах пародонту**

Клінічні спостереження за перебігом та локальними змінами ранового процесу у хворих на цукровий діабет показали суттєві відмінності та наявність гістологічних особливостей у порівнянні із пацієнтами, що не мали порушень вуглеводного обміну. Дослідники показали, що особливостями ранового процесу були пролонгованість фази запалення та затримка репаративних процесів. Чинниками ранових ускладнень на фоні ЦД автори розглядають тривалу локальну нейтрофільно-макрофагальну інфільтрацію із відтермінованим, але значним збільшенням кількості фібробластів [57].

Відповідно, стан та динаміку локальної реактивності тканин у зоні ранового процесу, у проведеному дослідженні – це альвеолярна лунка, характеризують показники експресії CD68 відомого макрофагального маркера [148], тоді як проліферацію  $\square$  Ki67, який експресують клітини у всіх фазах їх росту [149].

Для розуміння цілісної картини стану вродженої ланки місцевого імунітету особливостей протікання процесу регенерації в м'яких тканинах пародонту було розраховано імунопроліферативний індекс за формулою:

$$\text{ІПІ} = \text{ВІМ}_{\text{CD68}} / \text{ВІМ}_{\text{Ki-67}}, \quad (2.4),$$

де ІПІ – імунопроліферативний індекс;

$\text{ВІМ}_{\text{CD68}}$  – вміст імунореактивного матеріалу до CD68;

$\text{ВІМ}_{\text{Ki-67}}$  – вміст імунореактивного матеріалу до Ki-67.

#### **2.2.4.1 Імуногістохімічний метод визначення показників експресії CD68 для оцінки стану вродженої ланки місцевого імунітету тканин пародонту у щурів**

Маркер диференціювання CD68 є високоглікозильованим глікопротеїном, що експресується у макрофагах та інших мононуклеарних фагоцитах. Традиційно CD68 використовується у якості високо специфічного цитохімічного маркера для імуного фарбування моноцитів/макрофагів при гістохімічному аналізі тканин із запаленням, або пухлинним процесом. Клітинно-специфічна експресія CD68 та рівні його диференційованої експресії визначаються складною взаємодією між факторами транскрипції, регуляторними елементами транскрипції і епігенетичними факторами [150].

Експериментально доведено, що CD68 в основному розташований в ендосомальному/лізосомальному компартменті, але може швидко переміщуватися на поверхню клітини. Однак роль CD68 в якості рецептора «сміття» ще не доведена. Схоже, що CD68 не бере участі в зв'язуванні бактеріальних або вірусних патогенів, вроджених, запальних або гуморальних імунних реакціях, хоча потенційно може брати участь у процесингу/презентації антигену [150]. Вважають, що CD68 може бути функціонально важливим в остеокластах, оскільки його делеція призводить до зниження здатності резорбції кістки. Підтвердження цієї дії було доведено у експериментальних дослідженнях Хуе L. та співавт. (2018) [148], які встановили, що імунопозитивні клітини CD68 + були присутні в запальній інфільтрації ясен та приймали участь в руйнуванні альвеолярної частини.

Саме ці встановлені властивості CD68+ імунопозитивних клітин, а саме, підтримання запального процесу та активація резорбції кісткової тканини сприяли рішенню про визначення показників його експресії в тканинах пародонту для оцінки стану вродженої ланки місцевого імунітету після екстракції зуба на фоні цукрового діабету. Більш того, останні роки науковці багато уваги приділяють встановленню особливостей співвідношення субпопуляцій макрофагів M1, M2 та Mox. Доведено, що паралельне визначення показників експресії CD68 та iNOS дає можливість оцінити поляризацію макрофагів у бік «класично» активованих M1 із значним утворення фактору некрозу пухлин-альфа, оксиду азоту та інших прозапальних цитокінів та медіаторів [151].

В роботі для визначення показників експресії CD68 у тканинах пародонту щурів експериментальних груп було використано імуногістохімічний метод. Гістологічна підготовка тканин пародонту, імуногістохімічне фарбування первинними кролячими IgG до CD68 (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200 та вторинними мишачими IgG до повної молекули IgG кроля, кон'югованими з FITC (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200, введення мікрозображення у комп'ютерну систему та його аналіз проводилися аналогічно методу дослідженню ізоформного профілю ферменту NOS (див. пп. 2.2.3).

В ході автоматичного оцифрування зображення визначали: відносну площу матеріалу, імунореактивного (ПІМ) до CD68 (%) у площі «маски» (100 %), концентрацію і вміст CD68 в питомій площі, яку займає імунореактивний матеріал до CD68 ( $O_{dif}$ ). Дослідженню підлягали не менше ніж 50 полів зору з кожної серії.

#### **2.2.4.2 Імуногістохімічний метод визначення показників експресії Ki-67 для оцінки особливостей протікання процесу регенерації в м'яких тканинах пародонту у щурів**

Сьогодні вже добре відомо, що Ki-67 являє собою негістоновий ядерний білок, який експресується проліферуючими клітинами при всіх активних фазах клітинного циклу. Доведено, що антиген Ki-67 є одним з білків-регуляторів

клітинного циклу та визначається за допомогою ІГХ реакції. В ході реакції відповідні первинні антитіла зв'язуються з ядерним негістоновим протеїном, що експресується у фазах росту клітин ( $G_1$ , S,  $G_2$ ) і у фазі мітозу (M). При цьому імунонегативними будуть ті клітини, що знаходяться у фазі спокою ( $G_0$ ). Саме ці властивості роблять Ki-67 високоспецифічним та інформативним маркером проліферативної активності [149, 152].

Багатьма науковцями доведено, що підвищену експресію Ki-67 завжди спостерігають при запальних процесах та злоякісних станах. Існує безліч фактів підвищеної його експресії при цукровому діабеті, пародонтитах, гінгівітах [149, 152].

Для ІГХ дослідження показників експресії Ki-67 у м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп фрагменти тканин після стандартної гістологічної підготовки фіксували у парапластових блоках та готували серійні зрізи товщиною 5 мкм на ротаційному мікротомі Microm-325 (Microm Corp., Germany). Підготовлені зрізи інкубували в холодовій камері зі специфічними первинними антитілами до Ki-67 (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200; подальшої експозиції у термостаті із вторинними антитілами кон'югованими із FITC (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200 за стандартною методикою та ІГХ протоколом виробника (див. пп. 2.2.3).

Вивчення зрізів пародонту, проводили в ультрафіолетовому спектрі збудження 390 нм за допомогою світлофільтру 38NE з високою емісією (Carl Zeiss, Germany) на мікроскопі Axio Scope (Carl Zeiss, Germany) Під час напівавтоматичного аналізу зображення в інтерактивному режимі виділяли зони зі статистично значущою флуоресценцією. Показниками експресії Ki-67 були: вміст матеріалу, імунореактивного (IPM) до нього ( $O_{dif}$ ), концентрація IPM у 1  $\text{мкм}^2$  зрізу ( $O_{dif}/\text{мкм}^2$ ) та питома площа розподілу IPM (%), які розраховували за формулами 2.1, 2.2 та 2.3 (див. 2.2.3).

Для додаткової візуалізації та ідентифікації типу проліферуючих Ki-67-імунопозитивних клітин «паралельні» зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином (рис. 2.6)

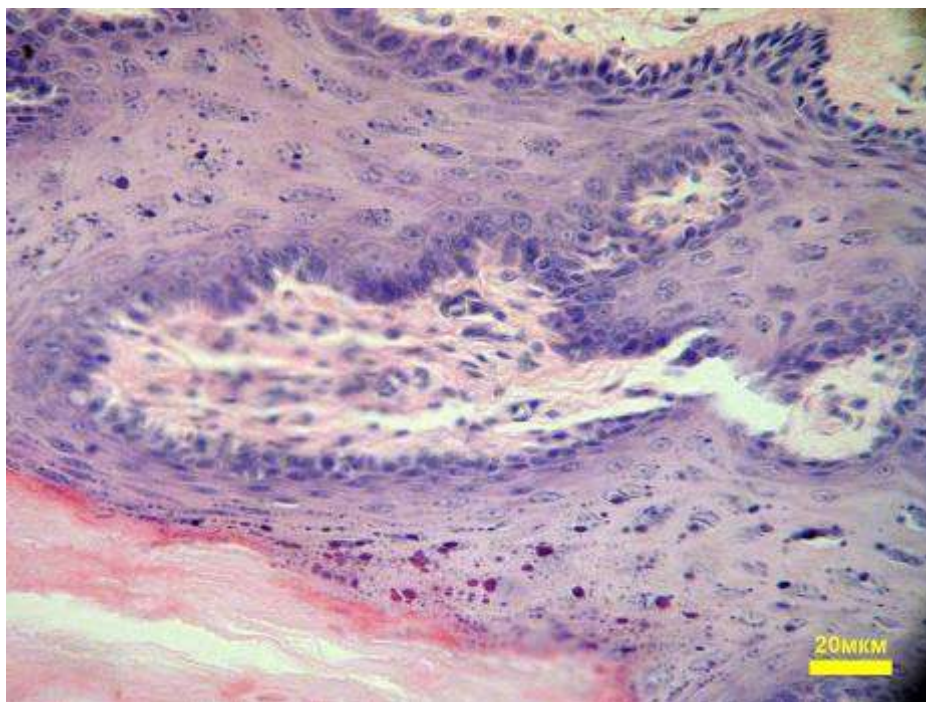


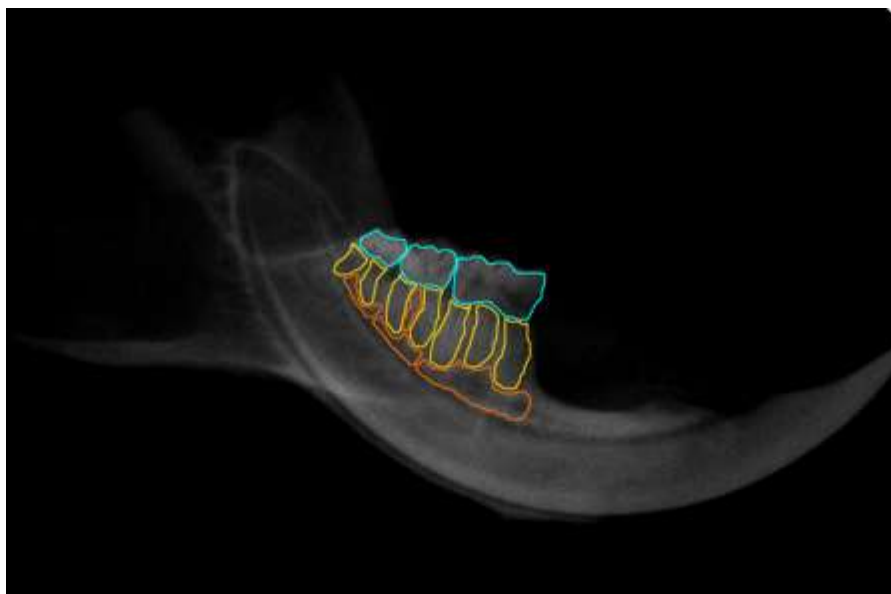
Рисунок 2.6 – Мікрображення пародонту щура контрольної групи.  
Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. x40  
Дослідженню підлягали не менше ніж 50 полів зору з кожної серії.

### **2.2.5 Метод оцінки стану кісткової тканини зубо-щелепного апарату та мінералізації твердих тканин молярів**

Радіографічні знімки напівмандибули щурів були зроблені після виведення тварин з експерименту шляхом одномометної декапітації під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг ваги). Щелепні кістки негайно відділяли від голови тварини, видаляли м'які тканини і розміщували в холодному розчині NaCl 0,9 %. Візіографію напівмандибули проводили не пізніше ніж через 2-3 години після виділення макропрепарату.

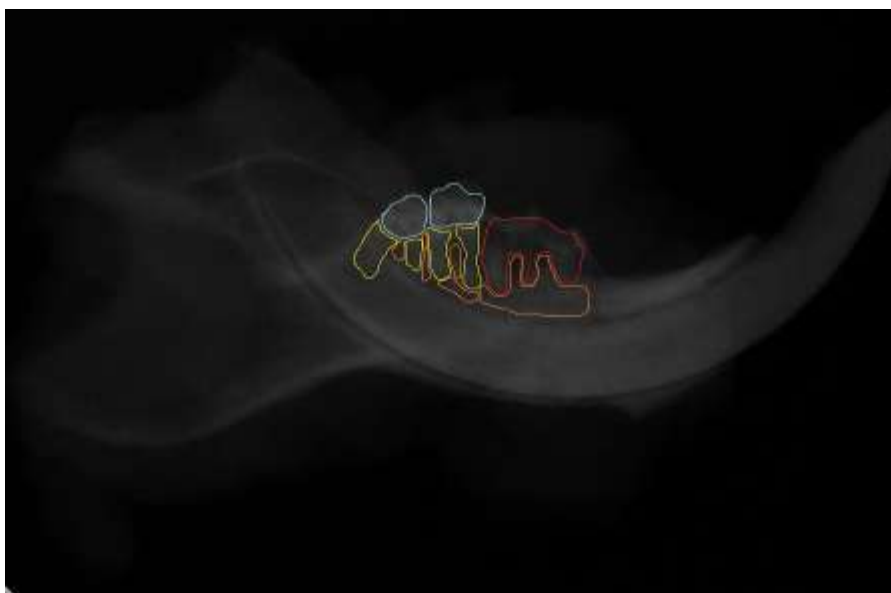
Знімки напівмандибул були отримані за допомогою комп'ютерного 3D томографа для проведення конусно-променевої томографії Panouga 18S Panoramic 3D (Японія). Для цифрового аналізу зображення та визначення радіографічної щільності (radiographic density) тканин напівмандибули й твердих тканин молярів на отриманих знімках в інтерактивному режимі виділялися «зони інтересу» (area of interest) відповідні альвелярній лунці видаленого 1-го моляра, коронки 1-го, 2-

го і 3-го молярів їх коренів і кісткових перетинок альвеолярної частини (інтеральвеолярним та інтєррадикулярним перетинкам (ІАРП)) (рис. 2.7 та 2.8).



Примітка. Кольорові позначення «зон інтересу» для цифрового аналізу радіографічної щільності досліджуваних показників: коронка зуба – блакитний, корінь зуба – жовтий, інтеральвеолярні та інтєррадикулярні перетинки – помаранчевий.

Рисунок 2.7 – Радіографічний знімок правої напівмандибули щурів без екстракції зуба



Примітка. Кольорові позначення «зон інтересу» для цифрового аналізу радіографічної щільності досліджуваних показників: коронка зуба – блакитний, корінь зуба – жовтий, інтеральвеолярні та інтєррадикулярні перетинки – помаранчевий, зона альвеолярної лунки – червоний.

Рисунок 2.8 – Радіографічний знімок правої напівмандибули щурів після екстракції зуба

Підготовлені зображення обраховувались за допомогою програмного забезпечення Axio Vision 4.8.2 (Carl Zeiss, Німеччина) та Excel 7.0.

Радіографічну щільність (RD) розраховували за формулою 2.5:

$$RD = |\lg 10(BG/AOI)|, \quad (2.5)$$

де RD – радіографічна щільність тканин напівмандибули;

AOI – «зона інтересу»;

BG – радіографічна щільність «зони фону» (background area) виділеної ділянки м'яких тканин мандибули без кісткових утворень.

Дослідженню підлягали 15 знімків правих напівмандибул з кожної експериментальної групи.

### **2.2.6 Статистична обробка результатів дослідження**

Статистичну обробку отриманих результатів проводили на персональному комп'ютері в програмі «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., США, ліцензія № AXXR712D833214FAN5). Гіпотезу про нормальність розподілу досліджуваних показників перевіряли з використанням критерію Шапіро-Уїлка. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Для виявлення достовірності відмінностей результатів досліджень в експериментальних і контрольних групах щурів проводили обчислення коефіцієнта Ст'юдента (t), після чого визначали ймовірність відмінності вибірок (p) і довірчий інтервал середньої за таблицями розподілу Ст'юдента. Достовірними вважали значення, для яких  $dbc \leq [153]$ .

Матеріали розділу відображені в 1 статті та 4 наукових тезах [154-158].



### РОЗДІЛ 3

## СТАН СИСТЕМИ МОНООКСИДУ АЗОТУ ПАРОДОНТУ У ЩУРІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ГРУП

Використовуючи методи імуногістохімічного дослідження співвідношення і показників експресії ізоформного профілю ферменту NOS та біохімічного визначення концентрації стабільного метаболіту оксиду азоту – нітриту було проведено комплексну оцінку стану системи монооксиду азоту м'яких тканин пародонту щурів експериментальних груп, як в нормі так і на фоні цукрового діабету. Окрім того, були проаналізовані особливості змін досліджуваних параметрів системи NO після видалення зуба, що дозволило оцінити не тільки стан самої системи, а й можливий її внесок у обтяження перебігу цукрового діабету, механізми формування ускладнень основного захворювання та післяекстракційних наслідків.

### **3.1 Характеристика ізоформного профілю ферменту NOS у м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп**

Багатьма науковцями доведено, що для адекватної трофіки, іннервації та репарації тканин при фізіологічних й патологічних станах важливим є спроможність медіаторних та регуляторних систем, особливо системи монооксиду азоту. В цьому контексті важливу роль приділяють локальному утворенню NO та діяльності систем трансдукції його сигналів безпосередньо клітинам [37-38]. Однак виявилось, що універсальний газотрансмітер NO чинить різноспрямовані ефекти, а його функціональна значущість істотно відрізняється та залежить не тільки від кількісних характеристик. Доведено зв'язок ефектів від типу, співвідношення та локалізації ізоформ NOS, що його утворюють [32, 37-40, 43-45].

Сьогодні існує достатньо фактів про роль NO як чинника регуляції фізіологічних функцій та патологічних процесів. Вже доведено, що з порушенням

його біосинтезу та метаболізму пов'язані такі захворювання, як ішемічна хвороба серця, інфаркт міокарда, артеріальна гіпертензія, бронхіальна астма, хвороби Альцгеймера та Паркінсона, цукровий діабет та інші [38-44]. Але не менше фактів про формування цих хвороб через недостатність утворення NO [48, 63].

Саме велика кількість виявлених даних про різноспрямованість ефектів NO, різні особливості його утворення [38], зв'язок клінічних проявів та ефектів від типу ізоформи синтази оксиду азоту [47-48], що відіграє ключову роль у механізмах синтезу NO, призвели до припущення ролі дисбалансу ізоформного профілю NOS в пародонті у формуванні ускладнень після хірургічних втручань на фоні цукрового діабету.

### **3.1.1 Особливості експресії нейрональної NOS у м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп**

Зацікавленість дослідженням особливостей експресії нейрональної NOS у м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп пов'язана із доведеним фактом, що nNOS при експериментальному пародонтиті значно обмежує активацію окисного стресу в тканинах пародонту, знижує прооксидантну реакцію, але підвищує активність каталази [159]. В експериментальній моделі ортодонтичного зубного руху Nilforoushan D. та Manolson MF. у 2009 році довели, що саме nNOS більш залучена на ранніх стадіях морфологічних перебудов тканин пародонту [160].

Проведене ІГХ дослідження та цифровий аналіз показників експресії nNOS в м'яких тканинах пародонту показало, що на 1-у добу після екстракції зуба в контрольних щурів відбулося суттєве зменшення її концентрації майже на 18 %, однак при цьому питома площа розподілу ізоформи збільшилася на 41 %, що, ймовірно, пов'язано із формуванням локальної запальної реакції та поширенням її через вторинну альтерацію [55] (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 – Показники експресії нейрональної NOS у пародонті щурів експериментальних груп ( $M \pm m$ )

Експериментальні групи, n=15		Вміст IPM до nNOS, $O_{dif}$	Концентрація IPM до nNOS, $O_{dif}/\mu\text{км}^2$	Питома площа IPM до nNOS, %
Без екстракції	Контроль-0	$151,41 \pm 7,36$	$20,49 \pm 1,07$	$45,56 \pm 1,4$
	Діабет-0	$132,64 \pm 4,32^2$	$16,75 \pm 0,95^2$	$62,44 \pm 1,17^2$
1-доба після екстракції	Контроль-1	$162,78 \pm 8,14$	$17,37 \pm 1,02^1$	$69,15 \pm 2,01^1$
	Діабет-1	$218,83 \pm 17,56^{2,3}$	$38,85 \pm 2,81^{2,3}$	$65,11 \pm 1,27$
7-доба після екстракції	Контроль-7	$149,17 \pm 6,21$	$28,33 \pm 2,21^1$	$68,34 \pm 1,99^1$
	Діабет-7	$272,16 \pm 18,45^{2,3}$	$24,54 \pm 0,95^3$	$74,37 \pm 1,73^{2,3}$
14-доба після екстракції	Контроль-14	$168,34 \pm 5,41$	$30,24 \pm 2,14^1$	$52,41 \pm 1,68^1$
	Діабет-14	$201,7 \pm 15,43^{2,3}$	$21,62 \pm 1,78^2$	$46,89 \pm 1,26^{2,3}$

Примітка 1. (<sup>1</sup>) – достовірна різниця показників контрольних груп ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи із попереднім строком екстракції.

Примітка 2. (<sup>2</sup>) – достовірна різниця показників груп із ЕЦД ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно показників контрольної групи відповідного строку екстракції.

Примітка 3. (<sup>3</sup>) – достовірна різниця показників груп із експериментальним цукровим діабетом ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно показників щурів із ЕЦД попереднього строку екстракції.

На 7-у добу постекстракційного періоду показники експресії nNOS групи «Контроль-0» у порівнянні із показниками групи «Контроль-1» характеризувалися зменшенням вмісту ізоформи на 17 %, при цьому концентрація ферменту навпаки – збільшилася на 63 % без зміни її питомої площі (див. табл. 3.1).

14-а доба характеризувалася подальшим збільшенням вмісту nNOS на 12,85 %, але зменшенням питомої площі її розподілу у пародонті на 30,39 %, що може бути пов'язано із зменшенням зони запалення та активацією процесів репарації та регенерації (див. табл. 3.1).

У щурів із ЕЦД групи «Діабет-0», яким не проводили екстракцію зуба, в пародонті вміст та концентрація nNOS, у порівнянні із показниками відповідного контролю «Контроль-0», характеризувалися значно нижчими значеннями. Так вміст nNOS був меншим значень контролю на 14 %, її концентрація – на 22,3 %. Питома площа, яку займала ізоформа, у порівнянні із відповідним контролем, для nNOS була більшою на 37 % (див. табл. 3.1). Є припущення, що саме ці отримані факти пояснюють ключові ланки патогенезу мікроангіопатій та нейропатій, які завжди формуються при ЦД через трофічні розлади та сформовану нейропатію [20-21, 26-27].

Екстракція зуба щурам із ЕЦД на 1-у добу призводила до суттєвого підвищення вмісту на 65% та концентрації у 2,3 рази nNOS порівняно із показниками щурів із ЕЦД без екстракції зуба. При цьому питома площа розподілу ферменту достовірно не змінювалась. Порівняльний аналіз досліджуваних показників із значеннями щурів групи «Контроль-1» показав, що видалення зуба щурам на фоні ЕЦД призводить до значного на 34,4 % збільшення вмісту, у 2,23 рази концентрації ІРМ до nNOS. При цьому показник питомої площі мав ті ж самі значення, що і у групі порівняння (див. табл. 3.1).

7-а доба постекстракційного періоду у щурів із ЕЦД, порівняно із групою тварин попереднього терміну після видалення зуба «Діабет-1», характеризувалася подальшим збільшенням вмісту nNOS на 24,3 %, поширенням площі її розподілу на 14,2 %. При цьому концентрація ізоформи, навпаки, зменшувалася на 58,3 %. Порівнюючи показники експресії nNOS у щурів цієї групи із значеннями відповідної групи «Контроль-7» звернули на себе увагу більш високі цифрові дані вмісту ізоформи на 82,4 % та її відносної площі на 8,8 %. Однак, концентрація ІРМ до nNOS достовірно не відрізнялася (див. табл. 3.1)

На 14-у добу після екстракції зуба у щурів із ЕГД було відмічене суттєве зменшення всіх досліджуваних показників експресії nNOS, у порівнянні із показниками тварин з ЕЦД із групи 7-ї доби після екстракції. Було визначено, що вміст ізоформи ферменту та її питома площа зменшилися відповідно на 35 % та 11,7 %. Більш того концентрація та питома площа розподілу nNOS були значно

меншими ніж у групі відповідного контролю (Контроль-14) на 39 % та 11,7 % відповідно, але вміст ізоформи був вищим відповідного показника на 19,8 % (див. табл. 3.1).

Таким чином, проведене ІГХ дослідження показників експресії nNOS у тканинах пародонту щурів експериментальних груп показало, що у щурів контрольних груп екстракція зуба на 1-шу добу постекстракційного періоду призводить до зменшення її концентрації, 7-а доба характеризується достовірним зниженням вмісту, але підвищенням концентрації nNOS. Заключний постекстракційний період – 14-а доба показує збільшення вмісту цієї ізоформи. На відміну у щурів із ЕЦД відмічаються більш низькі вихідні значення вмісту та концентрації nNOS. Екстракція зуба на фоні ЕЦД призводить до помірного збільшення показників експресії з 1-ї до 7-ї доби. Тоді як на 14-у добу постекстракційного періоду відбувається зниження більшості показників експресії ізоформи нижче, ніж у групі відповідного контролю.

Отримані дані свідчать, що цукровий діабет характеризується низьким вихідним вмістом нейрональної ізоформи NOS у пародонті щурів. Це дозволяє зробити припущення стосовно патогенетичної ролі її недостатності у формування діабетичної нейропатії та виникнення відтермінованих ускладнень після хірургічних втручань.

### **3.1.2 Особливості експресії ендотеліальної NOS у м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп**

Зацікавленість дослідженням стану та експресії ендотеліальної NOS при стоматологічних патологіях обумовлена різноманітністю функцій, що реалізуються через її активацію. До широко відомої функції регуляції судинного тону доведена роль eNOS у ключових етапах імунної відповіді, регуляції адгезії та агрегації тромбоцитів [161].

Отримані факти сприяли подальшим експериментальним та клінічним дослідженням експресії ендотеліальної NOS та поліморфізму її гену при стоматологічних патологіях. Так в дослідженнях розподілу генотипу та асоціації

генотип-фенотип при захворюваннях пародонту на предмет Glu298Asp поліморфізму гену eNOS був доведений зв'язок поліморфізму із підвищеною кровоточивістю при зондуванні ясен у хворих на пародонтит [162]. В іншому експериментальному дослідженні експресії eNOS при оклюзійній стимуляції гіпофункціональної періодонтальної зв'язки було доведено, що слабкість періодонту поєднується з низькою експресією конститутивних ізоформ та більшою мірою eNOS [160].

Ендотеліальна NOS являє собою конститутивну ізоформу ферменту NOS. Порівняльний аналіз показників її експресії із другою конститутивною формою – нейрональною в тканинах пародонту у щурів контрольної групи показав, що більш представленою за вмістом, концентрацією та питомою площею була ендотеліальна форма, досліджувані показники її експресії перевищували значення нейрональної ізоформи відповідно на 41,6 %, 88,7 % та 21,4 % (див. табл. 3.1 та 3.2).

Проведення екстракції зуба щурам контрольної групи вже на 1-у добу показало суттєве зменшення вмісту та концентрації досліджуваної ізоформи на 65 % та 95 %, відповідно, на фоні збільшення площі її розподілу у пародонті на 41,2 % (див. табл. 3.2).

7-а доба постекстракційного періоду у щурів контрольної групи характеризувалася майже у 2 рази збільшеним вмістом eNOS та підвищеною її концентрацією на 24,2 %. Однак, необхідно відмітити зменшення на 17,7 % питомої площі IPM, яку займала eNOS у тканинах пародонту (див. табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Показники експресії ендотеліальної NOS у пародонті щурів експериментальних груп ( $M \pm m$ )

Експериментальні групи, n=15		Вміст IPM до eNOS, $O_{dif}$	Концентрація IPM до eNOS, $O_{dif}/\mu\text{км}^2$	Питома площа IPM до eNOS, %
Без екстракції	Контроль-0	214,47 ± 16,17	38,67 ± 1,97	55,34 ± 1,95
	Діабет-0	172,36 ± 12,11 <sup>2,3</sup>	20,42 ± 1,16 <sup>2,3</sup>	49,46 ± 1,07 <sup>2,3</sup>
1-доба після екстракції	Контроль-1	134,17 ± 8,16 <sup>1</sup>	19,754 ± 0,67 <sup>1</sup>	78,16 ± 2,09 <sup>1</sup>
	Діабет-1	274,18 ± 12,46 <sup>2,3</sup>	28,65 ± 3,09 <sup>2,3</sup>	64,76 ± 1,44 <sup>2,3</sup>
7-доба після екстракції	Контроль-7	272,16 ± 8,45 <sup>1</sup>	24,54 ± 0,95 <sup>1</sup>	66,37 ± 0,73 <sup>1</sup>
	Діабет-7	286,95 ± 14,73	27,56 ± 1,85	61,59 ± 1,21 <sup>2</sup>
14-доба після екстракції	Контроль-14	284,25 ± 7,16	31,24 ± 1,22 <sup>1</sup>	58,11 ± 2,05 <sup>1</sup>
	Діабет-14	201,98 ± 9,75 <sup>2,3</sup>	17,66 ± 1,67 <sup>2,3</sup>	56,03 ± 1,19 <sup>3</sup>

Примітка 1. (<sup>1</sup>) – достовірна різниця показників контрольних груп ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи із попереднім строком екстракції.

Примітка 2. (<sup>2</sup>) – достовірна різниця показників груп із ЕЦД ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно показників контрольної групи відповідного строку екстракції.

Примітка 3. (<sup>3</sup>) – достовірна різниця показників груп із експериментальним цукровим діабетом ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно показників щурів із ЕЦД попереднього строку екстракції.

14-а доба у порівнянні із попереднім терміном після екстракції зуба показала у тканинах пародонту подальше збільшення концентрації eNOS на 27,3 %, але вміст ізоформи достовірно не відрізнявся від показника групи «Контроль-14», а питома площа ставала менше на 14,2 % (див. табл. 3.2).

Отримані факти про зміни показників експресії ендотеліальної eNOS у пародонті щурів контрольних груп показали залежність їх проявів від динаміки розвитку запального процесу. Зниження показників її експресії на першу добу відбулися через альтеративні пошкодження, порушення мікроциркуляції та локальні ішемічні розлади. Підвищення вмісту eNOS на 7-у добу після видалення

зуба характеризує завершення загоєння рани, початок стадії проліферації із відновленням кровопостачання. Подальші зміни досліджуваних показників експресії eNOS через два тижні після екстракції зуба показали фактичне завершення процесу запалення із зменшенням активності проліферації та неоваскуляризації.

Проведене дослідження експресії eNOS у щурів із ЕЦД, яким не проводили екстракцію зуба, показало, що в пародонті вміст та концентрація досліджуваної ізоформи, у порівнянні із показниками групи «Контроль-0», характеризувалися значно нижчими значеннями. Так вміст eNOS був меншим значень контролю на 24,4 %, її концентрація – на 89 %. Питома площа, яку займала ізоформа, у порівнянні із відповідним контролем, була меншою на 11,8 % (див. табл. 3.2). Встановлений факт недостатності ендотеліальної форми ферменту NOS при цукровому діабеті пояснює ключові ланки патогенезу мікроангіопатій, які завжди формуються при цієї патології [19, 21, 26-27].

Проведена екстракція зуба щурам із ЕЦД на 1-у добу призводила до суттєвого підвищення всіх показників експресії eNOS у порівнянні із показниками щурів із ЕЦД без екстракції зуба. Так вміст був більшим на 59 %, концентрація – на 40,3 %, питома площа IPM до eNOS на 30,9 %. Порівняльний аналіз отриманих показників експресії eNOS щурів із ЕЦД після видалення зуба із значеннями тварин контрольної групи на 1-шу добу постекстракційного періоду показав, що вміст та концентрація eNOS у пародонті щурів із ЕЦД майже у 2 рази перевищували відповідні показники контролю, але площа розподілу була меншою на 20 % (див. табл. 3.2).

На 7-у добу, у порівнянні із попереднім терміном після екстракції «Діабет-1», у щурів групи «Діабет-7» вміст, концентрація та питома площа IPM до eNOS залишалися у однакових межах. Порівняння із відповідним контролем «Контроль-7» показало відмінності у показниках питомої площі IPM до eNOS, у тварин із ЕЦД вона була меншою на 7,7 % (див. табл. 3.2).

Після двох тижнів у щурів групи «Діабет-14» показники вмісту та концентрації IPM до eNOS ставали нижчими як у порівнянні із значеннями групи



«Діабет-7» на 42 % та 56 %, відповідно, так і групи «Контроль-14» на 40,7 % та 76,8 %, відповідно (див. табл. 3.2).

У результаті аналізу показників експресії eNOS було встановлено, що у щурів груп контролю екстракція зуба призводить до суттєвого зниження її показників на 1-шу добу після екстракційного періоду із значним, більш ніж у 2 рази, їх збільшенням на 7-у та 14-у доби постекстракційного періоду. На відміну у щурів із ЕЦД екстракція зуба призводила на 1-шу та 7-у доби до збільшення показників експресії eNOS та їх зниження майже на 50 % на 14-у добу постекстракційного періоду.

Таким чином, у пародонті щурів цукровий діабет характеризується низьким вихідним вмістом обох конститутивних ізоформ NOS, як нейрональної так і ендотеліальної. У постекстракційному періоді на ранніх етапах відбувається значне підвищення показників їх експресії, але у віддалених термінах спостерігається зменшення їх утворення. Це дозволяє зробити припущення стосовно патогенетичної ролі недостатності eNOS та nNOS при цукровому діабеті у формування віддалених ускладнень при видаленні зуба через трофічні порушення.

### **3.1.3 Особливості експресії індукцйбельної NOS у м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп**

Сьогодні вже у жодного науковця не викликає сумніву, що надмірна активація iNOS викликає синтез високих концентрацій оксиду азоту, які впливають цитотоксично стимулюючи апоптоз та некроз [163], гальмують проліферацію і міграцію гладком'язових клітин, пригнічують синтез позаклітинного матриксу [164], надають потужну антитромбогенну дію [165], знижують транскрипцію протизапального ядерного фактору (NF- $\kappa$ B) [166], блокують експресію адгезивних молекул ендотелію (VCAM-1, E-селектин) [167] і хемотаксичних пептидів моноцитів [167], зменшують прилипання, інфільтрацію, агрегацію нейтрофілів і моноцитів [168]. Саме ці доведені факти грають патогенетичну роль у розвитку ускладнень екстракції зуба у хворих на цукровий

діабет. Однак, питання кількісних характеристик цієї ізоформи за умов ЦД та хірургічних втручань залишаються відкритими.

Після проведеного експериментального дослідження аналіз показників експресії iNOS у щурів груп контролю показав, що вже на 1-у добу після екстракції зуба у тканинах пародонту відбувається суттєве збільшення вмісту, концентрації та питомої площі IPM до ізоформи ферменту відповідно на 47,4 %, 51,7 % та 47,7 % (табл. 3.3).

Таблиця 3.3 – Показники експресії індукцйбельної NOS у пародонті щурів експериментальних груп (M±m)

Експериментальні групи, n=15		Вміст IPM до iNOS, O <sub>Dif</sub>	Концентрація IPM до iNOS, O <sub>Dif</sub> /мкм <sup>2</sup>	Питома площа IPM до iNOS, %
Без екстракції	Контроль-0	106,82 ± 5,84	11,76 ± 0,43	43,44 ± 0,91
	Діабет-0	187,14 ± 14,32 <sup>2,3</sup>	22,16 ± 2,41 <sup>2,3</sup>	52,49 ± 1,15 <sup>3</sup>
1-доба після екстракції	Контроль-1	157,41 ± 6,72 <sup>1</sup>	17,84 ± 1,16 <sup>1</sup>	64,17 ± 1,37 <sup>1</sup>
	Діабет-1	320,29 ± 26,94 <sup>2,3</sup>	36,79 ± 3,64 <sup>2,3</sup>	61,39 ± 1,31 <sup>3</sup>
7-доба після екстракції	Контроль-7	183,64 ± 9,21 <sup>1</sup>	22,57 ± 1,98 <sup>1</sup>	72,21 ± 1,24 <sup>1</sup>
	Діабет-7	423,05 ± 16,09 <sup>2,3</sup>	47,72 ± 2,14 <sup>2,3</sup>	71,4 ± 1,06 <sup>3</sup>
14-доба після екстракції	Контроль-14	137,36 ± 8,76 <sup>1</sup>	12,44 ± 0,65 <sup>1</sup>	54,33 ± 1,02 <sup>1</sup>
	Діабет-14	364,99 ± 21,75 <sup>2,3</sup>	49,24 ± 3,33 <sup>2</sup>	68,13 ± 1,45 <sup>2</sup>

Примітка 1. (<sup>1</sup>) – достовірна різниця показників контрольних груп ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи із попереднім строком екстракції.

Примітка 2. (<sup>2</sup>) – достовірна різниця показників груп із ЕЦД ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно показників контрольної групи відповідного строку екстракції.

Примітка 3. (<sup>3</sup>) – достовірна різниця показників груп із експериментальним цукровим діабетом ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно показників щурів із ЕЦД попереднього строку екстракції.

На 7-у добу постекстракційного періоду у контрольних щурів спостерігалось подальше прогресування підвищення показників експресії iNOS, при цьому вміст IPM збільшився на 17 %, його концентрація – на 26,5 %, питома площа – на 12,5 % (див. табл. 3.2).

На 14-у добу постекстракційного періоду була відмічена зворотна динаміка: всі досліджувані показники експресії ізоформи ферменту у порівнянні із показниками 7-ї доби зменшувалися на 33,6 % вміст IPM, на 81,4 % концентрація та на 32,9 % питома площа розподілу ферменту iNOS, що свідчить про зниження гостроти запального процесу та може розглядатися, як перехід альтеративної та ексудативної стадій запалення у проліферативну. Однак необхідно відмітити, що не зважаючи на факт зменшення показників експресії iNOS у порівнянні із показниками попереднього терміну спостереження – 7-ї доби, вміст IPM до ферменту та його питома площа залишалися відповідно більшими на 28,5 % й 25 %, чим у пародонті тварин інтактної групи без екстракції зуба (див. табл. 3.2). Цей факт доводить, що активність запального процесу після екстракції зуба до 14-ї доби хоча і знижується, але не завершується і може свідчити про «довгострокові» репаративні перебудови у тканинах пародонту.

Дослідження експресії iNOS у тканинах пародонту щурів із ЕЦД показало, що у тварин без хірургічних маніпуляцій (екстракції зуба) всі досліджувані показники перевищували значення інтактних тварин вмісту IPM до iNOS на 75 %, її концентрації на 88,4 %, питомої площі – на 20,8 %. Встановлений факт може свідчити про наявність «прихованого» запального процесу, через який відбувається збільшений синтез індукцйбельної ізоформи ферменту та її розповсюдженість у тканинах пародонту.

Видалення зуба у тварин із змодельованим ЕЦД призвело вже на 1-шу добу до значного збільшення вмісту та концентрації IPM до iNOS більш ніж у 2 рази. Однак відносна площа IPM достовірно не відрізнялася від показника до проведення екстракції «Діабет-0» так і у порівнянні із показниками відповідної групи «Контроль-1» (див. табл. 3.3).

На 7-у добу у щурів із ЕЦД, порівняно із попереднім терміном постекстракційного періоду «Діабет-1» відмічалось подальше зростання показників експресії iNOS. При цьому вміст ізоформи був більшим на 32 %, її концентрація – на 29,7 %, питома площа – на 16,3 %. Порівняння показників експресії із відповідним «Контролем-7» показало більш ніж дворазове перебільшення вмісту та концентрації ізоформи iNOS без суттєвих змін її відносної площі (див. табл. 3.2).

У щурів із ЕЦД на 14-у добу після екстракції зуба у порівнянні із попереднім терміном постекстракційного періоду 7-ю добою спостерігалось зменшення вмісту IPM на 16 %, при цьому концентрація та відносна площа IPM до iNOS достовірно не відрізнялися від порівняльних показників групи «Діабет-7». Порівняння із відповідним «Контролем-14» показало значне переважання всіх досліджуваних показників: вмісту IPM до iNOS у 2,7 рази, концентрації – у 4 рази та на 25 % ( $p_{st} < 0,05$ ) питомої площі (див. табл. 3.2).

Таким чином можна констатувати, що у тварин із ЕЦД спостерігається висока «фонова» концентрація, вміст та розповсюдженість ферменту iNOS у тканинах пародонту. Проведення в них хірургічного втручання, в нашому експерименті це видалення зуба, на 1-шу та 7-у доби після екстракції призводить до лавиноподібного збільшення синтезу iNOS більш ніж у 2 рази у порівнянні із групою тварин з ЕЦД без екстракції, та практично у 4 рази порівняно із «Контролем-0» (див. табл. 3.2).

Слід також відмітити, що очікуваного зниження показників експресії iNOS у щурів з ЕЦД на 14-у добу, яке спостерігали у щурів контрольної групи відповідного строку, не відбулося. Більш того, виявився факт збільшення питомої площі IPM до iNOS на 14-у добу на чверть, тому що у попередні строки після екстракції (1-а та 7-а доби) цей показник достовірно не змінювався (див. табл. 3.2). Можна припустити, що саме цей факт свідчить про розвиток вторинної альтерації у тварин із ЕЦД та стає важливим патогенетичним ланцюгом формування у них віддалених ускладнень: кровотеч, альвеоліту, абсцедуванню,

флегмоні, остеомієліту нижньощелепної кістки та порушення загоєння альвеолярної лунки [154-158].

### **3.2 Особливості концентрації нітритів у гомогенатах м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп**

Сьогодні для визначення концентрації NO та оцінки його біодоступності в умовах *in vivo* частіше використовують визначення рівня стабільних кінцевих його метаболітів □ нітритів і нітратів. При цьому найбільший інтерес представляють нітрити, які є єдиними стабільними кінцевими продуктами аутоокислення оксиду азоту у водному середовищі, тоді як нітрати утворюються при реакції NO із оксигемоглобіном або супероксидрадикалом [169-170]. Більш того, багато численні дослідження, які були проведені як у експерименті, так і при клінічному спостереженні показали, що рівень нітритів достатньо повно відображає ступінь активності NOS та біологічні ефекти NO [169-170].

Проведений порівняльний аналіз концентрацій стабільних метаболітів оксиду азоту нітритів у тварин контрольних груп показав, що видалення зуба призвело до очікуваного суттєвого збільшення їх рівня на 1-у добу у 1,8 рази, при цьому їх концентрація на 7-у та 14-у доби постекстракційного періоду знижувалась на 23,9 %, але залишалася підвищеною у порівнянні із показниками «Контроль-0» більш ніж на 45 % (табл. 3.4).

Дослідження концентрації нітритів у тканинах пародонту щурів із ЕЦД показало значно високий вихідний їх рівень у тварин без хірургічних втручань. При цьому показник перевищував значення групи «Контроль-0» більш ніж у 2,5 рази. Цікавим виявився факт, що екстракція зуба щурам із ЕЦД не призвела до достовірної зміни рівня нітритів на 1-у добу постекстракційного періоду. Тільки на 7-у добу в них було відмічене достовірне зростання концентрації нітритів на 20,3 % у порівнянні із попереднім терміном.

Таблиця 3.4 – Концентрація нітритів у пародонті щурів експериментальних груп (M±m)

Експериментальні групи, n=15		Концентрація нітритів, мкМ/г
Без екстракції	Контроль-0	3,95 ± 0,21
	Діабет-0	10,16 ± 0,68 <sup>2,3</sup>
1-доба після екстракції	Контроль-1	7,15 ± 0,43 <sup>1</sup>
	Діабет-1	11,67 ± 0,67 <sup>2,3</sup>
7-доба після екстракції	Контроль-7	5,77 ± 0,36 <sup>1</sup>
	Діабет-7	14,05 ± 0,53 <sup>2,3</sup>
14-доба після екстракції	Контроль-14	5,09 ± 0,44
	Діабет-14	13,37 ± 0,48 <sup>2,3</sup>

Примітка 1. (<sup>1</sup>) – достовірна різниця показників контрольних груп ( $p_{st}<0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи із попереднім строком екстракції.

Примітка 2. (<sup>2</sup>) – достовірна різниця показників груп із ЕЦД ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників контрольної групи відповідного строку екстракції.

Примітка 3. (<sup>3</sup>) – достовірна різниця показників груп із експериментальним цукровим діабетом ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників щурів із ЕЦД попереднього строку екстракції.

Слід також зазначити, що через два тижні після екстракції зуба концентрація нітритів достовірно не відрізнялася від показників групи «Діабет-7». Важливо відмітити, що у щурів із ЕЦД не залежно від терміну постекстракційного періоду в пародонті завжди спостерігалася висока концентрація нітритів у порівнянні із показниками контрольних тварин (див. табл. 3.4).

## Резюме

Проведені імуногістохімічні та біохімічне дослідження дозволили вивчити особливості стану системи монооксиду азоту у м'яких тканин пародонту щурів експериментальних груп, як в нормі так і на тлі цукрового діабету. Дали змогу порівняти та проаналізувати особливості змін досліджуваних параметрів системи NO у щурів експериментальних груп після видалення зуба.

В результаті дослідження було визначено, що у тканинах пародонту щурів групи контролю більш представленою за вмістом, концентрацією та питомою площею була ендотеліальна форма ферменту NOS.

Аналіз показників експресії nNOS показав, що у щурів контрольних груп екстракція зуба на 1-шу добу постекстракційного періоду призводить до зменшення її концентрації, 7-а доба характеризується достовірним зниженням вмісту, але підвищенням концентрації nNOS. Заключний постекстракційний період – 14-а доба показує збільшення вмісту цієї ізоформи. На відміну у щурів із ЕЦД відмічаються більш низькі вихідні значення вмісту та концентрації nNOS. Екстракція зуба на фоні ЕЦД призводить до помірного збільшення показників експресії з 1-ї до 7-ї доби. Тоді як на 14-у добу постекстракційного періоду відбувається зниження більшості показників експресії цієї ізоформи нижче, ніж у групі відповідного контролю.

Доведено, що у щурів груп контролю екстракція зуба призводить до суттєвого зниження показників експресії eNOS на 1-шу добу постекстракційного періоду зі значним, більш ніж у 2 рази, їх збільшенням на 7-у та 14- доби постекстракційного періоду. На відміну у щурів із ЕЦД екстракція зуба призводить на 1-шу та 7-у доби до збільшення показників експресії eNOS та її зниження майже на 50 % на 14-у добу постекстракційного періоду.

Визначено, що екстракція зуба у контрольних щурів супроводжується поступовим з 1-ї до 7-ї доби збільшенням вмісту та концентрації iNOS, при цьому заключний етап дослідження – 14 доба характеризується зниженням показників її експресії. Експериментальний цукровий діабет на 1-шу та 7-у доби після екстракції призводить до лавиноподібного збільшення синтезу iNOS більш ніж у 2 рази у порівнянні із групою тварин з ЕЦД без екстракції, та практично у 4 рази порівняно із «Контролем-0». При цьому очікуваного зниження показників експресії iNOS у щурів з ЕЦД на 14-у добу, яке спостерігається у щурів контрольної групи відповідного строку, не відбувається тому що виявився факт збільшення питомої площі IPM до iNOS на чверть.

Встановлено, що експериментальний цукровий діабет характеризується у пародонті щурів низьким вихідним вмістом обох конститутивних ізоформ NOS, як нейрональної так і ендотеліальної, але збільшеною експресією індукцибельної форми. Постекстракційний період характеризується на ранніх етапах значним підвищенням показників експресії всіх трьох ізоформ, але у віддалених термінах спостерігається зменшення утворення pNOS та eNOS із суттєвим збільшенням iNOS.

Визначено, що концентрація стабільних метаболітів оксиду азоту нітритів у тварин контрольних груп після видалення зуба суттєво збільшується на 1-у добу у 1,8 рази, на 7-у та 14-у добу постекстракційного періоду знижується на 23,9 %, але залишається підвищеною у порівнянні із показниками «Контроль-0» більш ніж на 45 %.

Доведено, що у тканинах пародонту щурів із ЕЦД концентрація нітритів має значно високий вихідний рівень перевищуючи значення групи «Контроль-0» більш ніж у 2,5 рази. Екстракція зуба щурам із ЕЦД не призводить до достовірної зміни рівня нітритів на 1-у добу постекстракційного періоду. Тільки на 7-у добу в них відмічається достовірне зростання концентрації нітритів на 20,3 % у порівнянні із попереднім терміном «Діабет-1». Через два тижні після екстракції зуба концентрація нітритів достовірно не відрізняється від показників групи «Діабет-7». Важливо відмітити, що у щурів із ЕЦД не залежно від терміну постекстракційного періоду в пародонті завжди спостерігається висока концентрація нітритів у порівнянні із показниками контрольних тварин.

Матеріали розділу відображені в 2 статтях та 2 наукових тезах [171-174].



**РОЗДІЛ 4**

**ХАРАКТЕРИСТИКА СТАНУ ВРОДЖЕНОЇ ЛАНКИ МІСЦЕВОГО ІМУНІТЕТУ ТА ОСОБЛИВОСТЕЙ ПРОТІКАННЯ ПРОЦЕСІВ РЕПАРАЦІЇ Й РЕГЕНЕРАЦІЇ В М'ЯКИХ ТКАНИНАХ ПАРОДОНТУ ЩУРІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ГРУП**

Використовуючи метод імуногістохімічного дослідження показників експресії CD68 та Ki-67 було проведено оцінку стану вродженої ланки місцевого імунітету та особливостей протікання процесу регенерації в м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп, як в нормі так і на фоні цукрового діабету. Окрім того, для розуміння цілісної картини стану вродженої ланки місцевого імунітету та особливостей протікання регенерації в м'яких тканинах пародонту було розраховано імунопроліферативний індекс, який дозволив визначити спрямованість та баланс досліджуваних процесів за умов експериментальної патології.

**4.1 Імуногістохімічна характеристика стану вродженої ланки місцевого імунітету тканин пародонту щурів експериментальних груп за показниками експресії CD68**

Привернення уваги до дослідження показників експресії CD68 у тканинах пародонту щурів після видалення зуба на фоні цукрового діабету було пов'язано із широко доведеними за останні десять років фактами про наявність CD68+ імунопозитивних макрофагів у запальних інфільтратах ясен та визначення їх ролі у руйнуванні альвеолярної частини при експериментальному пародонтиті. Саме із ними сьогодні асоціюють необоротну рецесію тканин пародонту при хронічних запальних захворюваннях. Її пов'язують із порушенням регуляції імунної активації та продукцією ферментів, що руйнують тканини [175].

Більш того, останні роки дослідження імунологів привели до визначення неоднорідності популяції макрофагів. Були виділені три основних клітинних

субпопуляції: макрофаги M1, M2 та Mox. В залежності від фенотипу та профілю експресії генів вони приймають участь в процесах запалення, відновлення пошкоджених тканин, захисту організму від окисного стресу. Саме від того, які з підтипів макрофагів домінують у регіоні запалення реалізуються механізми запального процесу: або «руйнівника» M1, який активно руйнує та перетравлює все, що зустрінеться на його шляху; або «будівельника та лікаря» M2. Характер активації макрофагів не є жорстко детермінованим і стабільним їх фенотип визначається сигналами мікрооточення. Показана можливість трансформації M1 фенотипу в M2 при зміні спектра стимулюючих цитокінів. Одна з відмінностей між M2 і M1 полягає в тому, що в M2 продуктами метаболізму аргініну є орнітин і поліаміни, тоді як в M1 – оксид азоту та цитрулін [150-151, 176].

Саме розуміння особливостей поляризації та диференціювання макрофагів у різні функціональні типи надасть можливість сформувати цілісну картину процесів, що відбуваються у пародонті при цукровому діабеті, знайти ключові ланки патогенезу формування ускладнень при видаленні зуба та хірургічних втручаннях на фоні цукрового діабету.

Візуальний огляд гістологічних зрізів м'яких тканин пародонту щурів контрольних групи показав, що у інтактному пародонті практично відсутні CD68-імунопозитивні макрофаги, а «світіння» IPM до CD68 виявляється на поодиноких клітинах, які розташовані поруч із судинами (рис. 4.1).

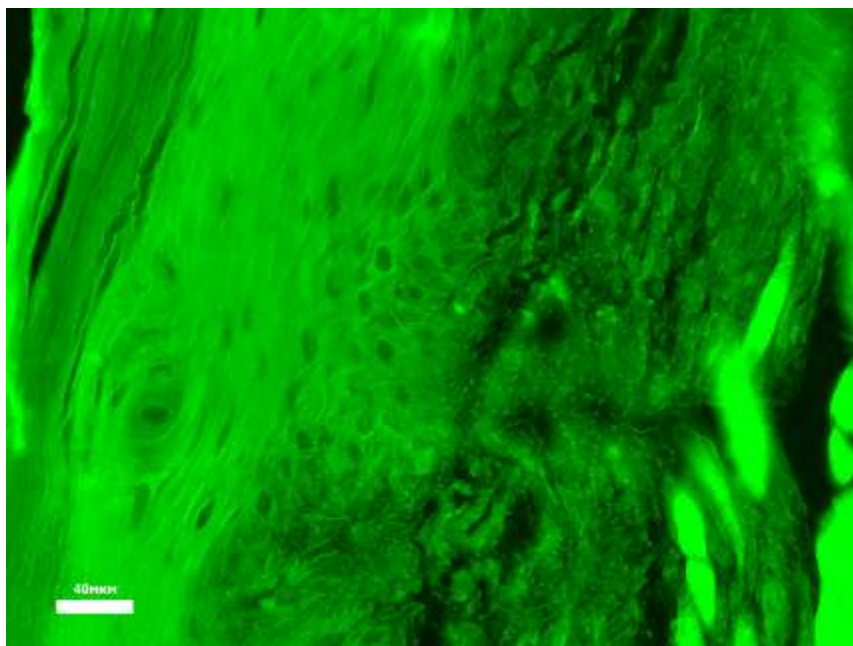


Рисунок 4.1 – Експресія CD68 у м'яких тканинах пародонту щура контрольної групи «Контроль-0». Реакція непрямой імунофлуоресценції з антитілами до CD68. Ок. x40

Аналіз цифрових показників експресії CD68 у пародонті щурів групи «Контроль-1» через одну добу після видалення зуба показав, що вміст та концентрація IPM достовірно не змінювалися, тоді як відносна площа IPM до CD68 ставала більшою на 24 % (табл. 4.1).

На 7-у добу постекстракційного періоду у щурів групи «Контроль-7» відмічалось збільшення вмісту та концентрації IPM до CD68 на 29,5 % та 37,6 % відповідно. При цьому відносна площа, яку займали CD68+імунопозитивні клітини залишалася не змінною у порівнянні із відповідним показником групи «Контроль-1» (див. табл. 4.1).

Таблиця 4.1 – Показники експресії CD68 у пародонті щурів експериментальних груп (M±m)

Експериментальні групи, n=15		Вміст IPM до CD68, O <sub>диф</sub>	Концентрація IPM до CD68, O <sub>диф</sub> /мкм <sup>2</sup>	Питома площа IPM до CD68, %
Без екстракції	Контроль-0	109,23 ± 5,84	12,05 ± 0,52	48,62 ± 1,41
	Діабет-0	275,34 ± 12,55 <sup>2</sup>	35,21 ± 0,75 <sup>2</sup>	62,05 ± 1,19 <sup>2</sup>
1-доба після екстракції	Контроль-1	121,34 ± 6,65	11,75 ± 0,61	60,34 ± 1,75 <sup>1</sup>
	Діабет-1	303,87 ± 15,97 <sup>2</sup>	48,20 ± 2,71 <sup>2,3</sup>	68,13 ± 2,44 <sup>2,3</sup>
7-доба після екстракції	Контроль-7	157,22 ± 7,34 <sup>1</sup>	16,17 ± 0,84 <sup>1</sup>	59,29 ± 1,85
	Діабет-7	344,13 ± 11,65 <sup>2,3</sup>	44,30 ± 1,78 <sup>2</sup>	65,05 ± 1,02 <sup>2</sup>
14-доба після екстракції	Контроль-14	135,31 ± 7,75 <sup>1</sup>	13,41 ± 0,74 <sup>1</sup>	55,13 ± 1,42
	Діабет-14	357,66 ± 13,28 <sup>2</sup>	49,17 ± 2,93 <sup>2</sup>	59,08 ± 0,97 <sup>2,3</sup>

Примітка 1. (1) – достовірна різниця показників контрольних груп ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи із попереднім строком екстракції.

Примітка 2. (2) – достовірна різниця показників груп із ЕЦД ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно показників контрольної групи відповідного строку екстракції.

Примітка 3. (3) – достовірна різниця показників груп із експериментальним цукровим діабетом ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно показників щурів із ЕЦД попереднього строку екстракції.

Через два тижні після екстракції зуба у щурів групи «Контроль-14» було відмічено достовірне зменшення вмісту та концентрації IPM до CD68 на 16 % та 20,5 % відповідно. Відносна площа IPM до CD68 достовірно не відрізнялася від показника групи «Контроль-7». Варто відмітити, що досліджувані показники експресії CD68 у тварин на другому тижні постекстракційного періоду залишалися достовірно вищими, ніж у групі тварин без видалення зуба «Контроль-0». При цьому вміст IPM до CD68 був вищим на 23,8 %, питома площа – на 13,3 % (див. табл. 4.1).

Встановлена динаміка експресії IPM до CD68 у тварин контрольних груп після видалення зуба показує, що значна макрофагальна інфільтрація тканин пародонту відбувається тільки через тиждень після пошкодження, за два тижні кількісні показники починають знижуватися через «затухання» запальної реакції.

Але, більш високий вміст та питома площа розподілу IPM до CD68 наприкінці дослідження свідчать про подальші реконструктивні процеси, що відбуваються у пародонті.

Візуальна діагностика експресії CD68 у пародонті щурів із ЕЦД показала, що у них відбувається вихідна висока інфільтрація макрофагами м'яких тканин, що свідчить про наявність макрофагальної інфільтрації через прихований запальний процес (рис. 4.2).

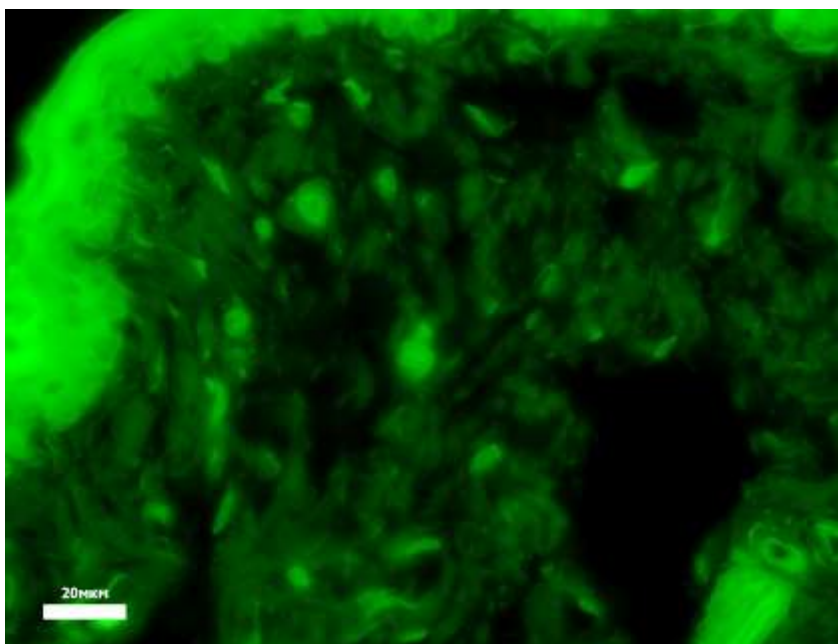


Рисунок 4.2 – Експресія CD68 у м'яких тканинах пародонту щура із ЕЦД групи «Діабет-0». Реакція непрямой імунофлуоресценції з антитілами до CD68.

Ок. x40

При цьому всі цифрові показники експресії білку CD68 значно перевищували порівняльні значення групи щурів «Контроль-0». Так, у них вміст, концентрація та питома площа IPM до CD68 були у 2,52 рази, 2,92 рази та на 27,6 % відповідно, вищими (табл. 4.1).

Екстракція зуба щурам із ЕЦД на 1-шу добу постекстракційного періоду не дуже змінила картину експресії білку CD68 у тканинах пародонту. При цьому його вміст достовірно не змінився, у порівнянні із групою щурів «Діабет-0»,

однак, концентрація збільшилася на 36,8 %, питома площа – на 9,7 % (див. табл. 4.1).

7-а доба постекстракційного періоду у щурів із ЕЦД характеризувалася збільшенням на 13,2 % вмісту ІРМ до CD68, однак, його концентрація та питома площа, у порівнянні із попереднім терміном, достовірно не змінилися (див. табл. 4.1).

На 14-у добу після екстракції зуба тваринам із ЕЦД вміст та концентрація CD68 достовірно не відрізнялися від показників групи «Діабет-7», тоді як питома площа достовірно збільшилася на 6,2 % (див. табл. 4.1).

За результатами проведеного дослідження експресії CD68 у тканинах пародонту щурів експериментальних груп можна констатувати, що у щурів контрольних груп хірургічна маніпуляція – екстракція зуба - призводить до розвитку класичного запального процесу, що супроводжується у віддаленому періоді (7 доба) макрофагальною інфільтрацією м'яких тканин пародонту із «затуханням» цього процесу наприкінці другого тижня. Слід зазначити, що на 14 добу запальна реакція не завершується через подальші реконструктивні процеси у пародонті. Стан вродженої ланки місцевого імунітету тканин пародонту щурів із ЕЦД характеризується наявністю «прихованого» запального процесу та розповсюдженою макрофагальною інфільтрацією м'яких тканин пародонту. Проведення екстракції зуба на цьому фоні не призводить до значного додаткового збільшення експресії CD68, процес відбувається більш повільно, але характеризується його пролонгацією у віддаленому періоді.

#### **4.2 Імуногістохімічна характеристика особливостей протікання процесів репарації й регенерації у м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп за показниками експресії Ki-67**

Відомо, що Ki-67 являє собою негістоновий ядерний білок, який експресується проліферуючими клітинами при всіх активних фазах клітинного циклу [149, 152]. Підвищену експресію Ki-67 завжди спостерігають при запальних

процесах та злоякісних станах. Існує безліч фактів підвищеної його експресії при цукровому діабеті, пародонтитах, гінгівітах [152].

Підвищення показників його експресії при ЕЦД не викликає жодного сумніву. Але, динаміка змін проліферативної активності при хірургічних втручаннях на фоні ЦД досі залишається недостатньо вивченою. Відсутні результати порівняльних досліджень експресії фактору проліферації Ki-67 на різних стадіях розвитку запального процесу на фоні системного захворювання.

Проведене ІГХ дослідження тканин пародонту показало, що у щурів контрольної групи без екстракції зуба проліферативна активність у м'яких тканинах дуже низька, візуально виявляються поодинокі клітини із флуоресценцією (рис. 4.3).

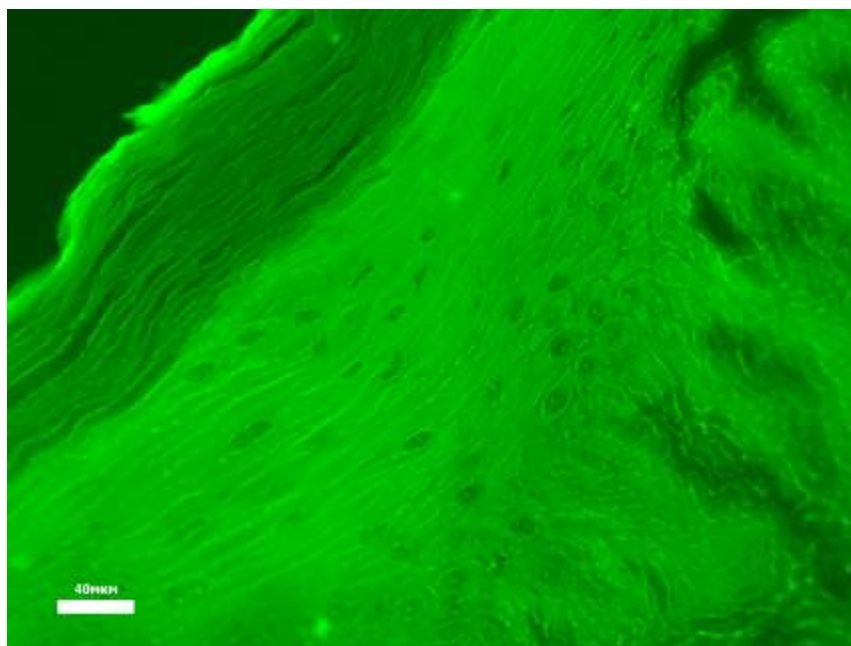


Рисунок 4.3 – Проліферативна активність у пародонті щура контрольної групи. Реакція непрямой імунофлуоресценції з антитілами до Ki-67. Ок. x40

Екстракція зуба щурам контрольної групи вже на першу добу дослідження призводила до достовірного збільшення вмісту на 15,4 % та концентрації на 29,3 % ІРМ до Ki-67 без зміни питомої площі його розподілу у тканинах пародонту (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 – Показники експресії Ki-67 у пародонті щурів експериментальних груп ( $M \pm m$ )

Групи, n=15		Вміст ІРМ до Ki-67, $O_{Dif}$	Концентрація ІРМ до Ki-67, $O_{Dif}/\mu\text{км}^2$	Питома площа ІРМ до Ki-67, %
Без екстракції	Контроль-0	120,24 ± 4,02	11,09 ± 0,33	40,32 ± 1,26
	Діабет-0	175,25 ± 9,16 <sup>4</sup>	18,44 ± 1,27 <sup>4</sup>	58,66 ± 1,95 <sup>4</sup>
1-доба після екстракції	Контроль-1	138,78 ± 5,97 <sup>1</sup>	14,34 ± 0,78 <sup>1</sup>	42,41 ± 1,14
	Діабет-1	286,09 ± 26,94 <sup>2,4</sup>	32,27 ± 1,74 <sup>2,4</sup>	60,88 ± 1,56 <sup>4</sup>
7-доба після екстракції	Контроль-7	215,16 ± 10,22 <sup>1,3</sup>	24,67 ± 1,57 <sup>1,3</sup>	56,34 ± 1,76 <sup>1,3</sup>
	Діабет-7	297,21 ± 22,35 <sup>2,4</sup>	29,59 ± 1,88 <sup>2,4</sup>	64,27 ± 1,14 <sup>2,4</sup>
14-доба після екстракції	Контроль-14	168,45 ± 8,75 <sup>1,3</sup>	16,69 ± 1,08 <sup>1,3</sup>	51,97 ± 1,64 <sup>1</sup>
	Діабет-14	380,89 ± 18,59 <sup>2,3,4</sup>	34,12 ± 1,86 <sup>2,3,4</sup>	61,13 ± 1,81 <sup>4</sup>

Примітка 1. (<sup>1</sup>) – достовірна різниця показників контрольних груп ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи без екстракції.

Примітка 2. (<sup>2</sup>) – достовірна різниця показників груп із ЕЦД після екстракції зуба ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно показників групи з ЕЦД без екстракції.

Примітка 3. (<sup>3</sup>) – достовірна різниця показників експериментальних груп з екстракцією зуба ( $p_{st} < 0,05$ ) до показників попереднього строку в кожній моделі.

Примітка 4. (<sup>4</sup>) - достовірна різниця показників груп щурів з ЕЦД ( $p_{st} < 0,05$ ) до показників відповідної групи контролю

7-а доба характеризувалася подальшим збільшенням всіх досліджуваних показників у порівнянні із 1-ю добою на 55 %, 72 % та 32,8 % вмісту, концентрації та питомої площі відповідно (див. табл. 4.2).

У контрольних щурів на 14-у добу постекстракційного періоду спостерігалось зменшення вмісту та концентрації ІРМ до Ki-67 порівняно із попереднім терміном спостереження 7-ю добою, однак відносна площа ІРМ до Ki-67 залишалася незмінною. Слід також відмітити, що порівняно із показниками контрольної групи щурів, яким не проводили екстракцію зуба всі досліджувані показники експресії залишалися достовірно вищими (див. табл. 4.2).



Таким чином можна констатувати, що підвищена проліферативна активність у тканинах пародонту після екстракції зуба спостерігається вже на 1-шу добу після хірургічного втручання та залишається високою навіть за два тижні. Саме цей факт підтверджує класичне уявлення про особливості перебігу запального процесу; стадії альтерації, ексудації та проліферації започатковуються практично одночасно, перетікаючи одна в одну. Слід також зауважити, що навіть за два тижні процес запалення не завершується, відбувається подальша реконструкція тканин пародонту.

Порівняльний візуальний та цифровий аналіз показників проліферативної активності клітин у м'яких тканинах пародонту щурів із ЕЦД показав, що у них навіть без хірургічних втручань відмічається висока експресія Ki-67 (рис. 4.4) ніж в контролі. Були встановлені більш високі показники вмісту, концентрації та питомої площі ІРМ до Ki-67 на 45,7 %; 66,3 % та 45,5 %, відповідно (див. табл. 4.2).

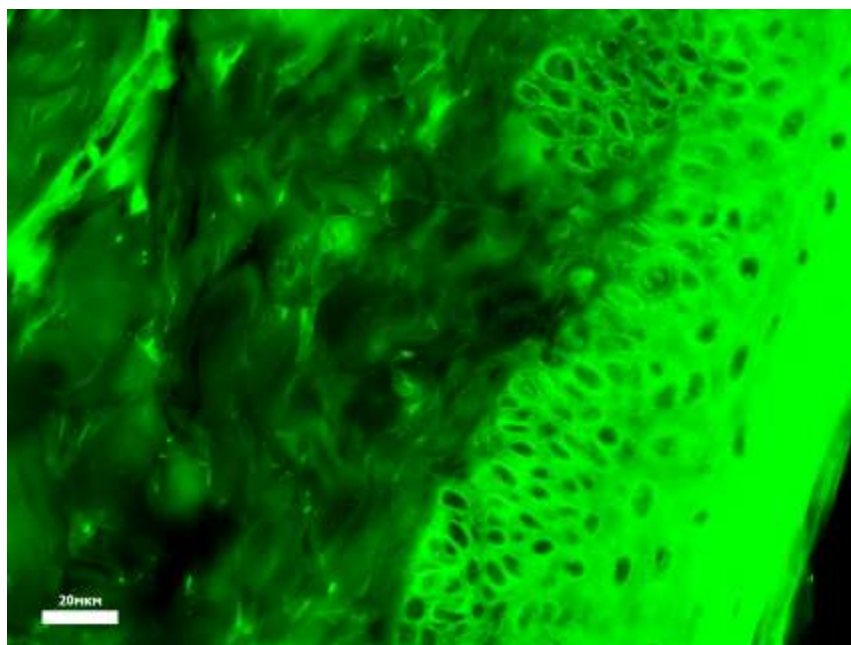


Рисунок 4.4 – Проліферативна активність у пародонті щура із ЕЦД групи «Діабет-0». Реакція непрямой імунофлуоресценції з антитілами до Ki-67. Ок. x40

Екстракція зуба щурам із ЕЦД на 1-у добу постекстракційного періоду, у порівнянні із показниками щурів з ЕЦД без екстракції, призводила до значного збільшення вмісту та концентрації ІРМ до Ki-67 на 63,2 % та 75 %, відповідно.

Необхідно зазначити, що у порівнянні із відповідним контролем («Контроль-1») ці показники збільшилися у 2 рази вміст та у 2,25 разів концентрація IPM до Ki-67 (див. табл. 4.2).

Подальші спостереження показали, що з 7-ї до 14-ї доби постекстракційного періоду показники експресії Ki-67 у тканинах пародонту щурів з ЕЦД не зменшувалися, як у відповідному контролі, а навпаки – збільшувалися. При цьому на 14-у добу вміст IPM до Ki-67 перевищив показники 7-ї доби на 28 %, його концентрація на 32,2 %. У порівнянні із відповідними показниками групи «Контроль-14» вміст був більшим у 2,26 разів, концентрація у 2,4 рази, питома площа на 17,6 % (див. табл. 4.2).

Результат проведеного дослідження показав, що при цукровому діабеті після хірургічного втручання (видалення зуба) висока вихідна проліферативна активність тканин пародонту зберігається та навіть стає ще більшою протягом тривалого часу. Однак ефективність такої проліферації низька, ремоделювання альвеолярної лунки не завершується через постійне підтримання запального процесу.

#### **4.3 Особливості балансу та спрямованість імунпроліферативних взаємин у м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп**

Окремі факти та цифрові показники не завжди повно характеризують процеси, що розвиваються динамічно та мають різну спрямованість. Для розуміння цілісної картини стану вродженої ланки місцевого імунітету та особливостей протікання регенерації в м'яких тканинах пародонту було розраховано імунпроліферативний індекс за формулою  $ІІІ = \text{VIM}_{\text{CD68}} / \text{VIM}_{\text{Ki-67}}$  (див. розд. 2.2.4) значення якого представлені у таблиці 4.3.

Таблиця 4.3 – Імунопроліферативний індекс спрямованості репаративно-проліферативних взаємин у пародонті щурів експериментальних груп (M±m)

Експериментальні групи, n=15		ІІІ
Без екстракції	Контроль-0	0,9
	Діабет-0	1,57
1-доба після екстракції	Контроль-1	0,87
	Діабет-1	1,06
7-доба після екстракції	Контроль-7	0,73
	Діабет-7	1,16
14-доба після екстракції	Контроль-14	0,82
	Діабет-14	0,94

Проведений аналіз розрахункового показника імунопроліферативних взаємин показав, що у щурів контрольних груп, незалежно від етапу експерименту завжди відмічався показник ІІІ менше одиниці, що свідчило про спрямованість процесу не у бік проліферації, а імунного захисту. Ймовірно, це пов'язано із особливостями функції тканин пародонту, наявності природної мікробіоти та впливу ферментів. Однак, моделювання ЕЦД призвело до знаного зсуву процесів у бік високої проліферації, яку, за думкою багатьох дослідників підтримує прихований запальний процес через нейротрофічні порушення. Цікавим виявився факт збереження вектору спрямованості процесів після екстракції зуба у щурів із ЕЦД. У них як на 1-шу та і на 7-у доби ІІІ залишався більше одиниці. І тільки за два тижні у них відбулося зниження ІІІ менше одиниці, однак при цьому порівняльні показники значно перевищували значення груп контролю.

## Резюме

Проведене імуногістохімічне дослідження стану вродженої ланки місцевого імунітету та особливостей протікання процесів репарації й регенерації в м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп дозволило визначити основні характеристики та динаміку змін показників експресії CD68 та Ki-67 після екстракції зуба як у контрольних щурів, так і у тварин із експериментальним цукровим діабетом.

Дослідження показали, що у інтактному пародонті практично відсутні активовані макрофаги, а «світіння» IPM до білку CD68 виявляється на поодиноких клітинах, які розташовані поруч із судинами. Навпаки, при ЕЦД відбувається вихідна значна дифузна інфільтрація CD68-імунопозитивними макрофагами м'яких тканин пародонту.

Доведено, що через одну добу після видалення зуба у контрольних щурів вміст та концентрація IPM до білку CD68 достовірно не змінюються, тоді як відносна площа IPM до CD68 стає більшою на 24 %. 7-а доба характеризується збільшенням вмісту та концентрації IPM до CD68 на 29,5 % та 37,6 %, відповідно, без зміни його відносної площі. На 14-у добу вміст та концентрація IPM до CD68 достовірно зменшуються на 16 % та 20,5 %, але без зміни його відносної площі.

Встановлена суттєва відмінність постекстракційного періоду у щурів із ЕЦД, в них експресія білку CD68 у тканинах пародонту на 1-шу добу не дуже відрізняється від показників групи «Діабет-0», при цьому його вміст достовірно не змінюється, а концентрація та питома площа збільшуються на 36,8 % та 9,7 %, відповідно. 7-а доба постекстракційного періоду характеризується збільшенням на 13,2 % вмісту IPM до CD68, однак його концентрація та питома площа, у порівнянні із попереднім терміном, достовірно не змінюються. Доведено, що завершальний період загоєння альвеолярної лунки – 14-а доба після екстракції зуба не змінює показники вмісту та концентрації білку CD68, тоді як питома площа стає більшою на 6,2 % у порівнянні із попереднім періодом.

Визначено, що у щурів контрольної групи без екстракції зуба проліферативна активність у м'яких тканинах пародонту дуже низька, візуально виявляються

поодинокі клітини із флуоресценцією. Однак у щурів із ЕЦД навіть без хірургічних втручань характерна висока проліферативна активність у пародонті переважно фіброblastів. Екстракція зуба контрольним щурам призводить до підвищення проліферативної активності вже на 1-у добу постекстракційного періоду, а також до достовірного збільшення вмісту на 15,4 % та концентрації на 29,3 % ІРМ до Кі-67 без зміни питомої площі його розподілу. Пікові значення показників проліферативної активності досягаються на 7-у добу та характеризуються збільшенням всіх досліджуваних показників у порівнянні із 1-ю добою на 55 %, 72 % та 32,8 % вмісту, концентрації та питомої площі відповідно. 14-а доба постекстракційного періоду показує зменшення вмісту та концентрації ІРМ до Кі-67 порівняно із попереднім терміном спостереження – 7-ю добою, однак, відносна площа ІРМ до Кі-67 залишається незмінною. Звертає увагу, що реконструктивні процеси у тканинах пародонту не завершуються, оскільки, порівняно із показниками контрольної групи щурів, яким не проводили екстракцію зуба, всі досліджувані показники експресії залишалися достовірно вищими.

Екстракція зуба щурам із ЕЦД призводить до суттєвого підвищення проліферативної активності у тканинах пародонту. На 1-у добу постекстракційного періоду, у порівнянні із показниками щурів з ЕЦД без екстракції, відбувається значне збільшення вмісту та концентрації ІРМ до Кі-67 на 63,2 % та 75 % відповідно. Порівняно із відповідним контролем («Контроль-1») показники вмісту збільшилися у 2 рази та у 2,25 разів концентрація ІРМ до Кі-67. З 7-ї до 14-ї доби постекстракційного періоду показники експресії Кі-67 у тканинах пародонту щурів з ЕЦД не зменшуються, як у відповідному контролі, а навпаки – збільшуються. При цьому на 14-у добу вміст ІРМ до Кі-67 перевищував показники 7-ї доби на 28 %, його концентрація на 32,2 %. У порівнянні із відповідними показниками групи «Контроль-14» вміст був більшим у 2,26 разів, концентрація у 2,4 рази, питома площа на 17,6 %. Таким чином, на відміну від контролю, для якого притаманний параболоподібний характер показників експресії Кі-67 із піком на 7-у добу та зниженням їх наприкінці 2-го тижня, у

пародонти щурів із ЕЦД, критерії проліферації характеризуються зростаючим трендом із максимальними значеннями на 14 добу.

Розрахунковий імунопроліферативний індекс у щурів контрольних груп, незалежно від етапу експерименту завжди менше одиниці, що свідчить про спрямованість процесу не у бік проліферації, а імуного захисту. При ЕЦД ІІІ характеризує зсув взаємин у бік проліферації через прихований запальний процес та нейротрофічні порушення. Вектор спрямованості процесів після екстракції зуба у щурів із ЕЦД зберігається. У них як на 1-шу та і на 7-у добу ІІІ залишається більше одиниці. І тільки на 14-у добу відмічено зниження ІІІ менше одиниці, однак, при цьому, порівняльні показники вмісту CD68 та Ki-67 значно перевищують значення груп контролю.

Матеріали розділу відображені в 2 статтях та 3 наукових тезах [177-181].

## **РОЗДІЛ 5**

### **ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЗУБО-ЩЕЛЕПНОГО АПАРАТУ ТА МІНЕРАЛІЗАЦІЇ ТВЕРДИХ ТКАНИН МОЛЯРІВ ЩУРІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ГРУП**

Використовуючи радіографічний метод та комп'ютерний аналіз зображень напівмандибул щурів експериментальних груп було визначено особливості стану кісткової тканини зубо-щелепного апарату та мінералізації твердих тканин молярів у нормі та у різні періоди після екстракції зуба на тлі експериментального стрептозотоцинового діабету. Проведений аналіз показника радіологічної щільності показав відмінності стану кісткової тканини мандибул у щурів із ЕЦД від значень контрольних тварин та довів, що ЦД є важливим патогенетичним фактором формування постекстракційних ускладнень не тільки через порушення резорбтивно-репаративних взаємовідносин в області альвеолярної лунки та прилеглих молярів, суттєвий внесок додають попередньо активовані резорбтивні процеси в кістковій тканині мандибули, зниження радіологічної щільності в області кореня 1-го моляра та інтеральвеолярно-радикулярних перетинок всіх трьох нижніх молярів.

#### **5.1 Особливості радіологічної щільності тканин інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок, коронки та кореня першого, другого й третього молярів у щурів контрольних груп в різні постекстракційні періоди**

Порівняльний аналіз показників радіологічної щільності (RD) досліджуваних структур 1-3 молярів у щурів групи «Контроль-0» без екстракції зуба показав, що RD коронок зубів, їх коренів та ІАРП не мали достовірних відмінностей (табл. 5.1).

Таблиця 5.1 – Радіографічна щільність тканин мандибули після екстракції зуба у щурів контрольної групи ( $M \pm m$ )

Структури, що досліджували		Радіографічна щільність, уОд			
		Без екстракції, n=15	1-доба після екстракції, n=15	7-доба після екстракції, n=15	14-доба після екстракції, n=15
1-й моляр	коронка зуба	0,518±0,011	альвеолярна лунка 1-го моляру		
	корінь зуба		0,172±0,006 <sup>1</sup>	0,182±0,006 <sup>1</sup>	0,280±0,006 <sup>1,2</sup>
	IAPП	0,408±0,012	0,247±0,008 <sup>1</sup>	0,356±0,012 <sup>1,2</sup>	0,367±0,015 <sup>1</sup>
2-й моляр	коронка зуба	0,527±0,018	0,432±0,011 <sup>1</sup>	0,508±0,012 <sup>2</sup>	0,522±0,011
	корінь зуба	0,481±0,017	0,450±0,012	0,463±0,009	0,471±0,013
	IAPП	0,392±0,016	0,315±0,007 <sup>1</sup>	0,368±0,009 <sup>2</sup>	0,370±0,012
3-й моляр	коронка зуба	0,511±0,016	0,484±0,012	0,499±0,014	0,492±0,014
	корінь зуба	0,474±0,014	0,435±0,015	0,455±0,016	0,467±0,009
	IAPП	0,384±0,014	0,341±0,012 <sup>1</sup>	0,369±0,014	0,397±0,015

Примітка 1. (<sup>1</sup>) – достовірні відмінності показників груп після видалення зуба ( $p_{st} < 0,05$ ) по відношенню до групи без екстракції.

Примітка 2. (<sup>2</sup>) – достовірні відмінності показників груп після видалення зуба ( $p_{st} < 0,05$ ) по відношенню до групи попереднього терміну.

Видалення 1-го нижнього моляру щурам контрольних груп на 1-у добу постекстракційного періоду призводило до достовірного зниження показника RD більш ніж у 2,7 рази в області кореня видаленого зуба та на 65 % в області IAPП, що пов'язано не тільки з екстракцією рентгенологічно щільних кісткових тканин зуба, свій внесок додає активна запальна реакція, яка через розвиток первинної та вторинної альтерації запускає початок резорбтивних процесів у кістковій тканині мандибули (див. табл. 5.1).

На 7-у добу після екстракції зуба показник RD в області альвеолярної лунки 1-го видаленого моляру достовірно не відрізнявся від значення групи попереднього терміну, тоді як у регіоні IAPП значення RD дозволили припустити



гальмування резорбтивних процесів у кістковій тканині мандибули та часткове відновлення мінералізації, про що свідчило збільшення RD на 44,1 % у порівнянні із 1-ю добою постекстракційного періоду (див. табл. 5.1).

14-а доба спостереження показала, що у порівнянні із попереднім періодом 7-ю добою, відбулося збільшення показника RD у ділянці кореня 1-го моляра на 53,8 % та відсутність достовірних відмінностей у області ІАРП. Варто зазначити, що у цьому періоді повного відновлення щільності кістки до показника групи «Контроль-0» не відбувалося, оскільки показник RD у ділянці кореня залишався меншим у 1,67 рази, а в області ІАРП – на 11 %, що є важливим свідченням продовження реконструктивних процесів у області альвеолярної лунки (див. табл. 5.1).

Відомо, що екстракція зуба супроводжується не тільки локальними запальними процесами в області альвеолярної лунки, доведено пов'язані зміни у поруч розташованих зубах, які характеризуються наявністю больового компоненту, розвитком періапікального періодонтиту із виникненням патологічної рухливості [182].

У щурів контрольної групи аналіз показників RD поруч розташованих із видаленим зубом 2-го й 3-го молярів показав, що його екстракція не могла не вплинути на стан кісткової тканини ІАРП. Вже на 1-у добу спостерігалось зниження радіологічної щільності ІАРП 2-го моляру на 24,4 %, а 3-го – на 16,8 %. Більш того, RD коронки зуба 2-го моляру показала її зниження на 21,9 %, що найімовірніше пов'язано із резорбцією кісткової тканини через активність запального процесу, порушення місцевої трофіки та зміни рН ротової рідини [183]. Слід зазначити оборотність виявленого процесу, тому що вже на 7-у добу було відзначено повне відновлення значень до показників контролю, при цьому показник RD на 14-у добу постекстракційного періоду достовірних відмінностей в досліджуваних областях не мав (див. табл. 5.1).

Таким чином, проведений аналіз показника радіологічної щільності тканин інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок, коронок та коренів першого, другого й третього молярів у щурів групи контролю без екстракції зуба

показав відсутність достовірних відмінностей. Екстракція зуба шурам контрольних груп призводила до закономірних змін досліджуваного параметру RD, який залежав від стадії запального процесу та відображав резорбтивно-репараційні взаємини, які динамічно змінювалися у залежності від стадії розвитку типового патологічного процесу – запалення.

## **5.2 Особливості радіологічної щільності інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок, коронки та кореня першого, другого й третього молярів у щурів із експериментальним цукровим діабетом**

Численні клінічні спостереження показали, що ЦД може не тільки впливати на патогенез стоматологічних нозологій, сьогодні вже доведений взаємно обтяжуючий зв'язок апікального періодонтиту, періоститу, гінгівіту із системними проявами цукрового діабету. Встановлено, що при ЦД у пацієнтів на тлі інфекційного процесу в щелепно-лицевій ділянці відзначаються більш виразна резорбція кістки і твердих тканин зуба, уповільнений перебіг запального процесу в періапікальній області та періодонті в цілому [184-186].

Більш того, цукровий діабет сьогодні розглядають, як метаболічне захворювання, що є модулятором ендодонтичних інфекцій [187]. Доведено його вплив на спрямованість імунної відповіді та запальної реакції, що порушує процес загоєння, сприяє пошкодженню органів і тканин організму, включаючи пульпу зуба і періапікальні тканини [184-186].

Проведений порівняльний аналіз значень радіологічної щільності тканин мандибули в області 1-2-3-го молярів у щурів з експериментальним стрептозотоциновим діабетом групи без екстракції зуба «Діабет-0» показав, що сформована гіперглікемія призводить до достовірного зниження RD в області ІАРП всіх трьох молярів: на 27,5 % – 1-го, 20,6 % – 2-го і 21,5 % – 3-го. При цьому показник RD області кореня 1-го моляра був також на 10,3 % нижче значень відповідного контролю, що дозволяє припустити у них посилення резорбтивних процесів в кістковій тканині (табл. 5.2).

Таблиця 5.2 – Радіографічна щільність тканин мандибули після екстракції зуба у шурів із експериментальним цукровим діабетом ( $M \pm m$ )

Структури, що досліджували		Радіографічна щільність, уОд			
		Без екстракції, n=15	Без екстракції, n=15	Без екстракції, n=15	Без екстракції, n=15
1-й моляр	коронка зуба	0,509±0,008	альвеолярна лунка 1-го моляру		
	корінь зуба		0,187±0,005 <sup>1</sup>	0,198±0,007 <sup>1</sup>	0,154±0,008 <sup>1,2</sup>
	ІАРП	0,320±0,006	0,391±0,016	0,387±0,009 <sup>1,2</sup>	0,291±0,009 <sup>1,2</sup>
2-й моляр	коронка зуба	0,515±0,009	0,521±0,008	0,496±0,011 <sup>1,2</sup>	0,458±0,008 <sup>2</sup>
	корінь зуба	0,476±0,015	0,485±0,013	0,427±0,012 <sup>1,2</sup>	0,356±0,009 <sup>1,2</sup>
	ІАРП	0,325±0,006	0,396±0,007 <sup>1</sup>	0,318±0,019	0,269±0,007 <sup>1,2</sup>
3-й моляр	коронка зуба	0,491±0,009	0,472±0,017	0,469±0,013	0,481±0,008
	корінь зуба	0,478±0,013	0,453±0,013	0,476±0,011	0,411±0,013 <sup>1,2</sup>
	ІАРП	0,316±0,014	0,374±0,015 <sup>1</sup>	0,275±0,011 <sup>1,2</sup>	0,269±0,011 <sup>1</sup>

Примітка 1. (<sup>1</sup>) – достовірні відмінності показників груп після видалення зуба ( $p_{st} < 0,05$ ) по відношенню до групи без екстракції.

Примітка 2. (<sup>2</sup>) – достовірні відмінності показників груп після видалення зуба ( $p_{st} < 0,05$ ) по відношенню до групи попереднього терміну.

Встановлений факт попередньо сформованої остеопенії при ЦД багато дослідників розглядають її як один з головних несприятливих факторів, що впливають на перебіг післяопераційного періоду у хворих. Так за результатами численних клінічних спостережень та експериментальних досліджень у хворих на ЦД були виділені патологічні зміни кісткової тканини, істотні мікроциркуляторні розлади та нейротрофічні порушення. При цьому вважають, що остеопенія й остеопороз, як найбільш розповсюджені патологічні зміни кісткової тканини, носять дифузний характер, оскільки «страждають» як губчасті, так і трубчасті кістки [188].

Проведені іншими науковцями гістоморфометричні дослідження показали, що при цукровому діабеті 1 типу спостерігається зменшене утворення кісткової тканини зі зниженням у ній обмінних процесів. В експерименті на щурах було встановлено, що при змодельованому стрептозотоциновому діабеті в кістковій тканині спостерігається зниження вмісту немінералізованого матриксу та кількості остеокластів [189].

Беззаперечним підтвердженням формування остеопорозу з резорбцією кісткової тканини у тварин групи «Діабет-0» стало зниження радіологічної щільності кореня 1-го моляра та ІАРП в ділянці 1-3-го молярів. Уразливість саме 1-го моляру із посиленням резорбційних процесів при ЦД пов'язана із його анатомо-функціональними особливостями. Саме на нього припадає найбільше жувальне навантаження у щурів.

Екстракція 1-го моляру у щурів з ЕЦД призводила на 1-у добу до очікуваного зниження радіологічної щільності в області його кореня, але відбулося неочікуване підвищення RD в зоні ІАРП на 22 %. В області ІАРП 2-го і 3-го молярів спостерігалася подібна картина – показник RD був збільшений на 21,8 % і 18,3 %, відповідно, що є результатом розвитку резорбтивної фази запальної реакції та значної інфільтрації м'яких тканин не лише в ділянці віддаленого моляру, а й сусідніх зубів (див. табл. 5.2).

На 7-у добу постекстракційного періоду у щурів з ЕЦД, на відміну від показників контрольних щурів групи «Контроль-7», спостерігалася зниження радіографічної щільності в області ІАРП 2-го й 3-го молярів на 24,5 % та 36 %, відповідно, з її зниженням у ділянці кореня 2-го моляра на 13,5 % (див. табл. 5.1 та 5.2).

14-а доба спостереження показала, що в цьому періоді відбувалися істотні структурні зміни в досліджуваних ділянках, тобто запальний процес не завершувався, а, навпаки, було відзначено зниження показника RD в області альвеолярної лунки та ІАРП 1-го моляра на 28,6 % й 33 %, відповідно. Явні резорбтивні процеси були виявлені при дослідженні показників радіологічної щільності частин 2-го моляра, при цьому відзначено зниження RD в області

коронки на 8,2 %, кореня зуба на 19,9 %, ІАРП – на 18,2 %. Резорбтивні процеси торкнулися й 3-го моляру, оскільки відзначено зниження RD його кореня на 15,8 % (див. табл. 5.1 та 5.2).

Таким чином проведений аналіз показав, що ЦД впливає на перебіг запального процесу після екстракції зуба. Було встановлено, що стійка гіперглікемія, як ключовий патогенетичний фактор обтяження хвороби, істотно змінює характер перебігу ранового процесу, пролонгує у часі стадії запалення та перешкоджає їх завершенню.

Вивчені в роботі особливості динаміки зміни показників радіологічної щільності кісткових тканин мандибули після видалення зуба на тлі ЦД в різні терміни постекстракційних періоду стали непрямим підтвердженням описаного вище факту. Так, підвищення, а не зниження показника RD на 1-у добу в області альвеолярної лунки і поруч розташованих 2-го й 3-го молярів могло бути наслідком значної інфільтрації, пов'язаної з розвитком масивної вторинної альтерації.

Завершальний етап резорбтивної фази місцевої запальної реакції також мав свої особливості. Так, в контролі на 7-у добу постекстракційного періоду, що відповідає цій фазі, спостерігалось практично повне відновлення RD, тоді як на тлі цукрового діабету навпаки, радіологічна щільність вивчених ділянок знижувалася, причому цей процес тривав і на 14-у добу. Саме цей встановлений факт свідчить про прогресування резорбтивних процесів на тлі низької проліферативної активності.

Крім виявлених особливостей перебігу запального процесу проведене дослідження показало роль ЕЦД в формуванні віддалених ускладнень у вигляді підвищеної рухливості поруч розташованих зубів. Про це опосередковано свідчило зниження, а не підвищення, показника RD в області ІАРП, які, будучи частиною апарату, що підтримує зуб, в нормі забезпечують не тільки стабільність його положення у кістці, також доведена їх трофічна функція, завдяки рясній васкуляризації та наявності великої кількості нервових закінчень [17]. Відповідно, порушення її мінералізації та зменшення об'єму кісткової

тканини призведе до порушення всіх зазначених функцій та, як наслідок, періодонтальне положення зуба стане нестабільним та збільшить його рухливість.

### **Резюме.**

Проведені радіографічні дослідження дозволили провести порівняльний детальний аналіз радіологічної щільності тканин інтеральвеолярних та інтеррадикулярних кісткових перетинок, коронок та коренів першого, другого й третього молярів у щурів контрольних та експериментальних груп в різні постекстракційні періоди.

Встановлено, що у щурів групи контролю без екстракції зуба відсутні достовірні відмінності радіологічної щільності тканин інтеральвеолярних та інтеррадикулярних кісткових перетинок, коронок та коренів першого, другого й третього молярів.

Виявлено, що видалення зуба щурам контрольних груп з нормальними показниками вуглеводного обміну супроводжується динамічними змінами радіологічної щільності не тільки в області екстракції, запальний процес зачіпає оточуючі 2-й та 3-й моляри, призводячи до її зниження в ділянках ІАРП. Встановлено, що рання резорбтивна фаза місцевої запальної реакції закінчується до 7-ї доби постекстракційного періоду, змінюючись до 14-ї доби на репаративну.

Окрім того, встановлено, що розвиток експериментального цукрового діабету у щурів призводить до посилення резорбтивних процесів в кістковій тканині мандибули, що проявляється зниженням RD в області кореня 1-го моляру й ІАРП всіх трьох нижніх молярів.

Доведено, що експериментальний цукровий діабет вносить свій внесок в особливості перебігу ранового процесу після видалення зуба. При цьому, він є важливою патогенетичною ланкою формування ускладнень через порушення резорбційно-репаративних взаємин в області альвеолярної лунки й прилеглих

молярів. Порушення кісткової мінералізації через прогресуючий ЦД змінює періодонтальну стабільність та збільшує рухливість оточуючих зубів.

Матеріали розділу відображені в 1 статті [190].

## РОЗДІЛ 6

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Результати дослідження, що були присвячені вивченню патогенетичних особливостей репаративного компонента постекстракційної альвеолярної лунки за умов експериментального цукрового діабету в залежності від терміну після екстракції зуба дозволили встановити, що через цукровий діабет у слизовій оболонці ротової порожнини формується ізозформний дисбаланс ферменту NOS, на фоні високого вихідного рівню нітритів, характерна розповсюджена макрофагальна інфільтрація та проліферативна активність фібробластів, в кістковій тканині мандибули цукровий діабет сприяє посиленню резорбтивних процесів, які характеризуються низькими значеннями радіологічної щільності в області кореня 1-го моляру в 2,27 рази, але високими в ділянці інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок в області всіх трьох нижніх молярів. Проведене дослідження показало, що екстракція зуба на фоні ЕЦД характеризується помірним збільшенням показників експресії eNOS та nNOS з 1-ї до 7-ї доби із зниженням на 14-у добу, тоді як iNOS на 1-шу та 7-у доби збільшується більш ніж у 2 рази, залишаючись сталою до 14-ї доби; стан місцевого імунітету після видалення зуба характеризується поступовим помірним збільшенням кількості CD68-імунопозитивних макрофагів, проте проліферативна активність прогресивно зростає вже з 1-ї до 14-ї доби; через прогресуючий набряк на 1-у добу у тканинах мандибули в зоні ІАРП 1-3-го молярів підвищується RD, знижуючись з 7-ї доби у наслідок посилення резорбтивних процесів, зачіпаючи корені 2-го моляру; при цьому запальний процес пролонгується до 14-ї доби та характеризується подальшим зниженням показника RD в області альвеолярної лунки та ІАРП 1-го моляра, коронки та кореня 2-го моляру та кореня 3-го.

Дані, що були отримані в експерименті, у деяких аспектах співпадають із результатами інших дослідників та лікарів, які відмічали, що цукровий діабет суттєво обтяжує перебіг стоматологічних захворювань [10-14]. Більш того,



доведено, що ранні патологічні зміни у хворих на цукровий діабет відбуваються саме у порожнині рота, і стоматологи стають першими, хто діагностує порушення вуглеводного обміну на підставі не лише характерних скарг, а й певної клінічної картини уражень слизової оболонки та тканин пародонту [3-5, 65-72].

У проаналізованих роботах автори зазначають, що ЦД це хронічне захворювання, яке постійно прогресує і обтяжується ускладненнями, у хворих швидко формуються мікро- та макроангіопатії, імунодефіцит, гіпосалівація, нейротрофічні розлади [3-5, 16-21]. Саме вони стають патогенетичними чинниками розвитку захворювань порожнини рота та формування ускладнень при стоматологічних хірургічних втручаннях. У хворих на ЦД відмічено зниження витривалості пародонту із розвитком діабетичної пародонтопатії, прогресує остеопороз, зменшується здатність до регенерації кісткової тканини, формуються запальні зміни слизової оболонки. Вже за декілька місяців після виявлення хвороби практично всі пацієнти мають ознаки пародонтиту [65-67].

Клініцисти відмічають, що найперші та найчастіші симптоми ЦД – це сухість у роті (ксеростомія), сухість губ у наслідок дегідратації на тлі поліурії, що особливо виражено в пацієнтів із латентним перебігом або неконтрольованим (декомпенсованим) діабетом. Крім цього, спостерігається ослаблення салівації (зокрема з привушних слинних залоз, що з роком у 10-25 % хворих призведе до їх компенсаторного збільшення). До основних проявів цукрового діабету на слизовій оболонці порожнини рота належать кандидоз, який може мати вигляд кандидозного стоматиту, ромбоподібного глоситу, ангулярного хейліту, і некандидозні ураження: ерозивно-виразковий стоматит, хронічний рецидивуючий афтозний стоматит, червоний плескатий лишай і лейкоплакія [104-105, 117-125].

Ще більш проблемними ці хворі стають за необхідності проведення їм хірургічних втручань. Як визначилося, хворі на ЦД мають багато стоматологічних проблем, що неоднорідні та не системні, мають різні комбінації, нетиповий перебіг та ускладнюють основне захворювання. Тоді як розуміння патогенетичних механізмів їх формування надасть можливість знизити ризик

розвитку ускладнень та розробити патогенетично обґрунтовані методи профілактики, діагностики та лікування.

Проведений попередній аналіз сучасної наукової літератури та клінічних спостережень показав, що відновлення тканин після хірургічного втручання залежить від сталості нейротрофічних процесів, ефективності місцевого імунітету та активності проліферації. За нормальних умов вони мають етапність протікання та залежать від стадії запальної реакції. Важливою умовою результативності запальної реакції є своєчасна активація відповідного процесу та його завершення [55-56]. При цьому ЦД вносить свій вклад у перебіг протікання запалення, динаміка описаних патогенетичних ланок порушується, що і стає причинами формування тяжких ускладнень [57]. Однак, цілісної та динамічної картини механізмів формування та розвитку ускладнень після видалення зуба на фоні цукрового діабету встановлено не було.

Відмінною особливістю проведеного дослідження було те, що в роботі застосовано метод комплексного аналізу стану та динаміки змін зубо-щелепного апарату мандибули, системи монооксиду азоту, місцевої ланки імунітету та проліферативної активності слизової оболонки ротової порожнини після видалення зуба на фоні цукрового діабету у різні пост екстракційні періоди.

Для цього спочатку було проведено моделювання експериментальної патології – цукрового діабету із важким перебігом протікання (рівень глікемії у щурів натще становив 17-22 мМ/л). У подальшому у цих щурів було проведено видалення першого нижнього моляру правої мандибули під тіопенталовим наркозом (доза 40 мг/кг) із додатковою місцевою інфільтраційною анестезією «Убістезином».

Після цього на 1-у, 7-у та 14-у доби досліджено вагові характеристики, у плазмі крові визначено концентрацію глюкози, оцінені ранні та віддалені постекстракційні ускладнення. Для виведення з експерименту тварин декапітовували під тіопенталовим наркозом (доза 40 мг/кг), матеріалом дослідження слугували екзартикульовані праві напівмандибули (для

радіографічного дослідження) та м'які тканини в ділянці першого моляру або в зоні його екстракції (для імуногістохімічного дослідження та гомогенізації).

Застосування сучасних методів цифрового аналізу зображення, отриманого імуногістохімічним методом, та використання математичних методів аналізу дозволили:

1) дослідити особливості стану локальної системи монооксиду азоту у слизовій оболонці тканин ротової порожнини за показниками вмісту, концентрації та розподілу кожної окремої ізоформи NOS та кількісними характеристиками концентрації кінцевих метаболітів NO – нітритів;

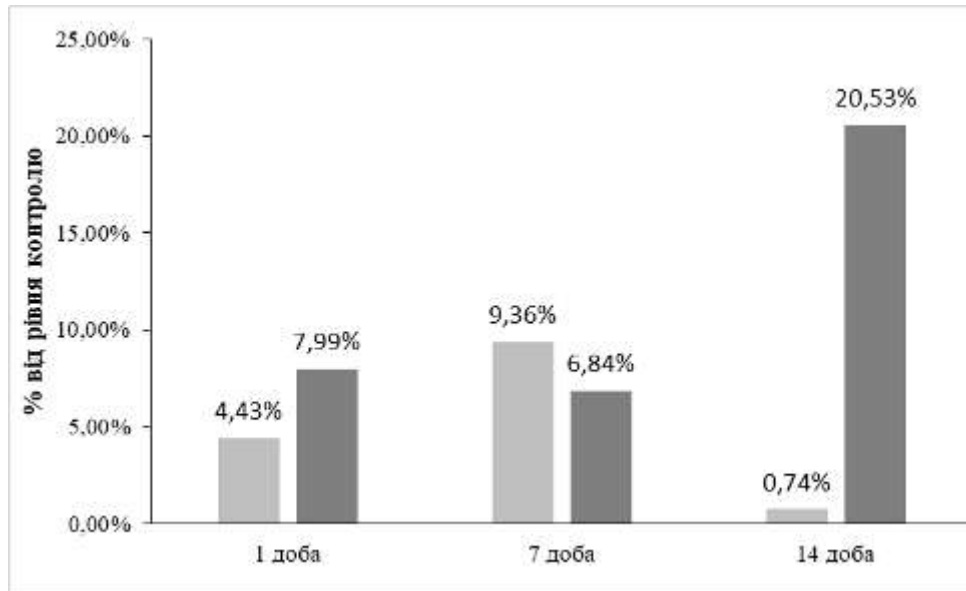
2) визначити особливості стану та динаміки змін місцевого імунітету у слизовій оболонці тканин ротової порожнини за показниками вмісту, концентрації та розподілу CD68-імунопозитивних макрофагів;

3) встановити особливості протікання процесу регенерації у слизовій оболонці тканин ротової порожнини за показниками вмісту, концентрації та розподілу показників експресії Ki-67;

4) показати, що видалення зуба на фоні цукрового діабету у кістковій тканині мандибули через вихідне посилення резорбтивних процесів призводить до порушення загоєння альвеолярної лунки та характеризується неефективними резорбційно-репаративними взаєминами.

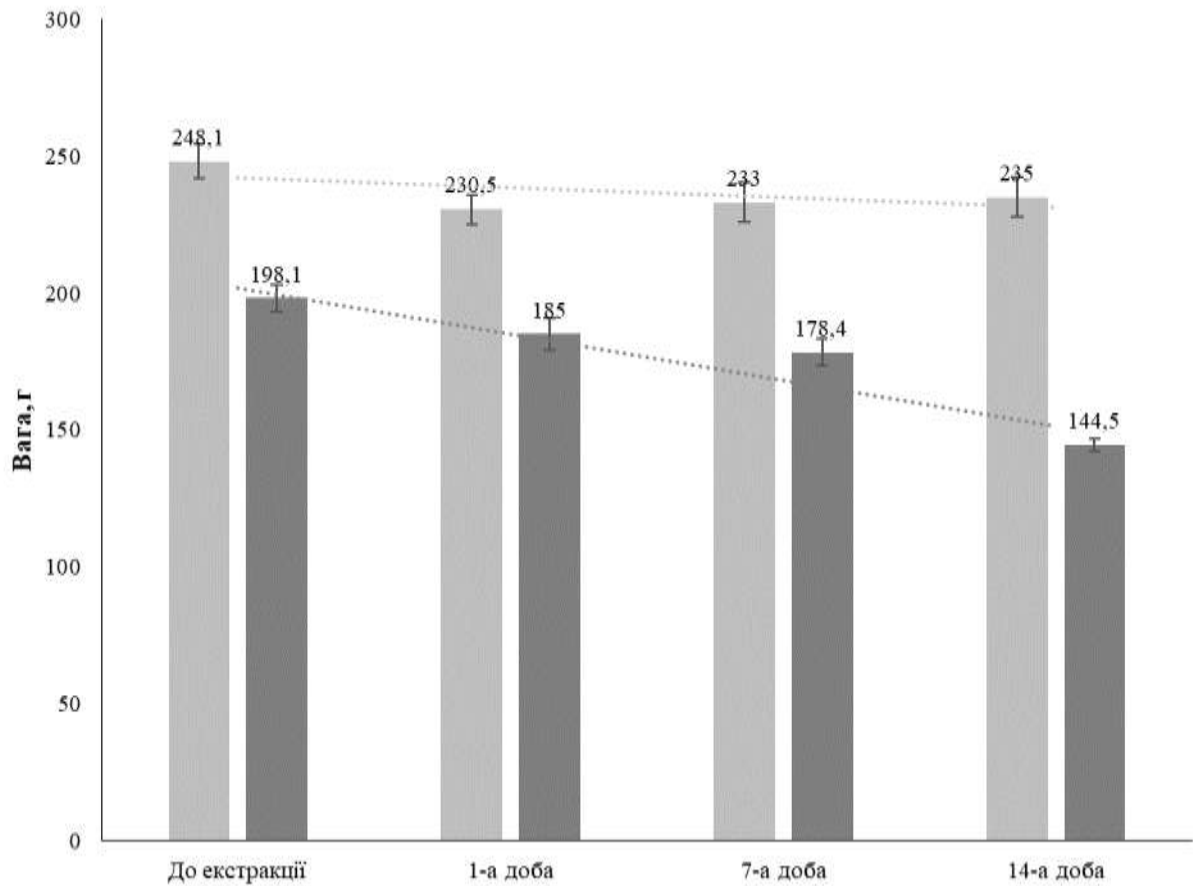
Перші важливі закономірності були встановлені вже при аналізі вагових характеристик у щурів із ЕЦД на фоні видалення зуба. Їх застосовано було у комплексній оцінці важкості перебігу ЦД та ускладнень, що формуються після видалення зуба (див. розд. 2, табл. 2.2).

При цьому аналіз показників важкості перебігу ЕЦД в різні терміни постекстракційного періоду показав, що поєднання двох патологій, а саме цукрового діабету і екстракції зуба, істотно обтяжує стан тварин. Спостерігалось прогресивне збільшення рівня глікемії, зниження ваги щурів. Відмічалось прогресивне підвищення плазмового рівня креатиніну і сечовини із розвитком ацидозу (рис. 6.1-6.4).



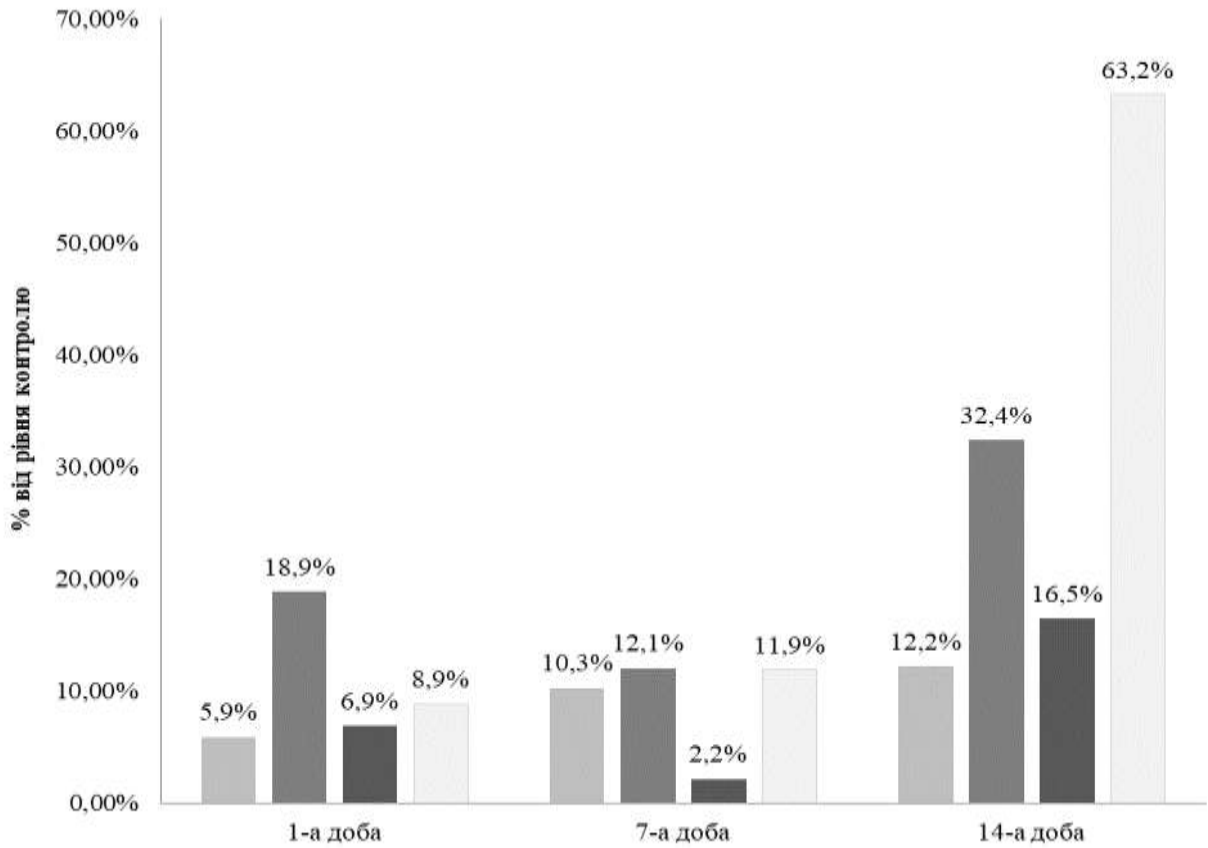
Примітка. □ – контроль; ■ – ЕЦД.

Рисунок 6.1 – Динаміка рівня глікемії натще у постекстракційному періоді у щурів експериментальних груп відносно показників до видалення



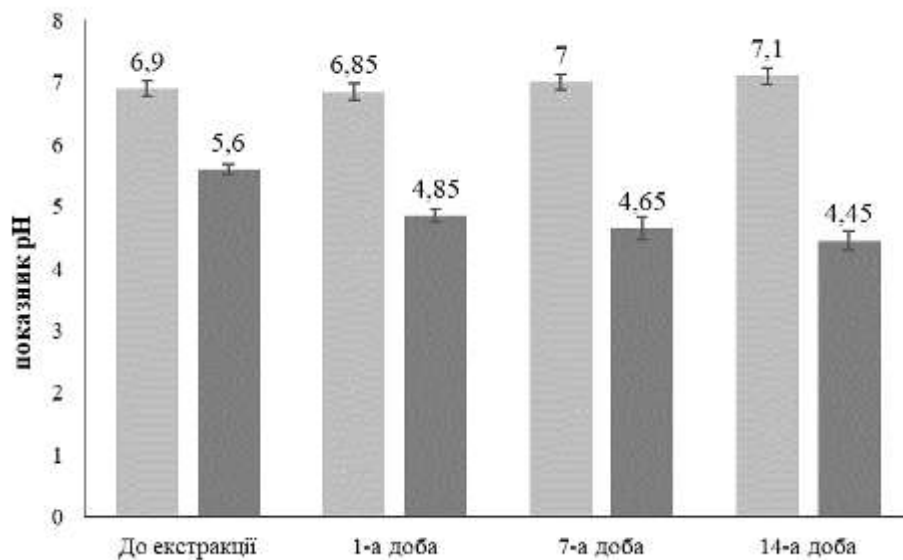
Примітка. □ – контроль; ■ – ЕЦД.

Рисунок 6.2 – Динаміка ваги у постекстракційному періоді у щурів експериментальних груп



Примітка. – креатинін плазми, контроль; – креатинін плазми, ЕЦД;  
 – сечовина плазми, контроль; – сечовина плазми, ЕЦД.

Рисунок 6.3 – Динаміка зміни креатиніну та сечовини у плазмі крові щурів експериментальних груп у постекстракційному періоді



Примітка. – контроль; – ЕЦД.

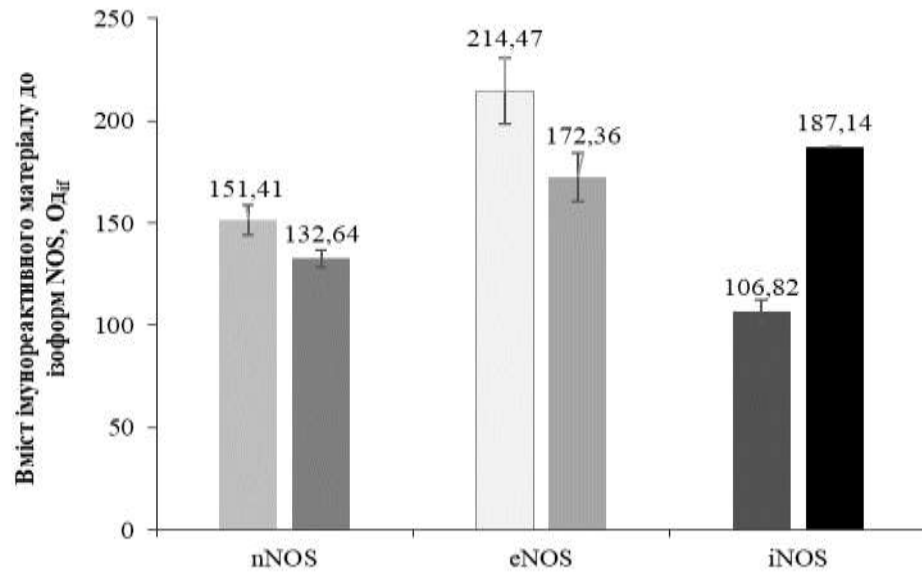
Рисунок 6.4 – Динаміка зміни рН сечі щурів експериментальних груп у постекстракційному періоді.

Аналіз постекстракційних ускладнень у тварин з ЕЦД показав, що ранні ускладнення розвивалися безпосередньо після проведення операції та протягом першої доби, тоді як віддалені, частіше – з 3-4-ї доби. В контролі в невеликій кількості відмічалися ранні кровотечі, які вже за добу зникали. Серед віддалених ускладнень були поодинокі кровотечі.

Зовсім інша картина формування ускладнень після видалення зуба спостерігалася у щурів із ЕЦД. Так майже у кожного щура спостерігалися ті чи інші ранні ускладнення, які з часом не тільки не зменшувалися, а, навпаки, наростали. Більш того, для зупинення кровотечі деяким тваринам доводилося обробляти лунку перекисом водню та класти гемостатичну губку. На 7-14 добу характер ускладнень змінювався через активний розвиток запальних процесів (див. розд. 2, рис. 2.2 та 2.3).

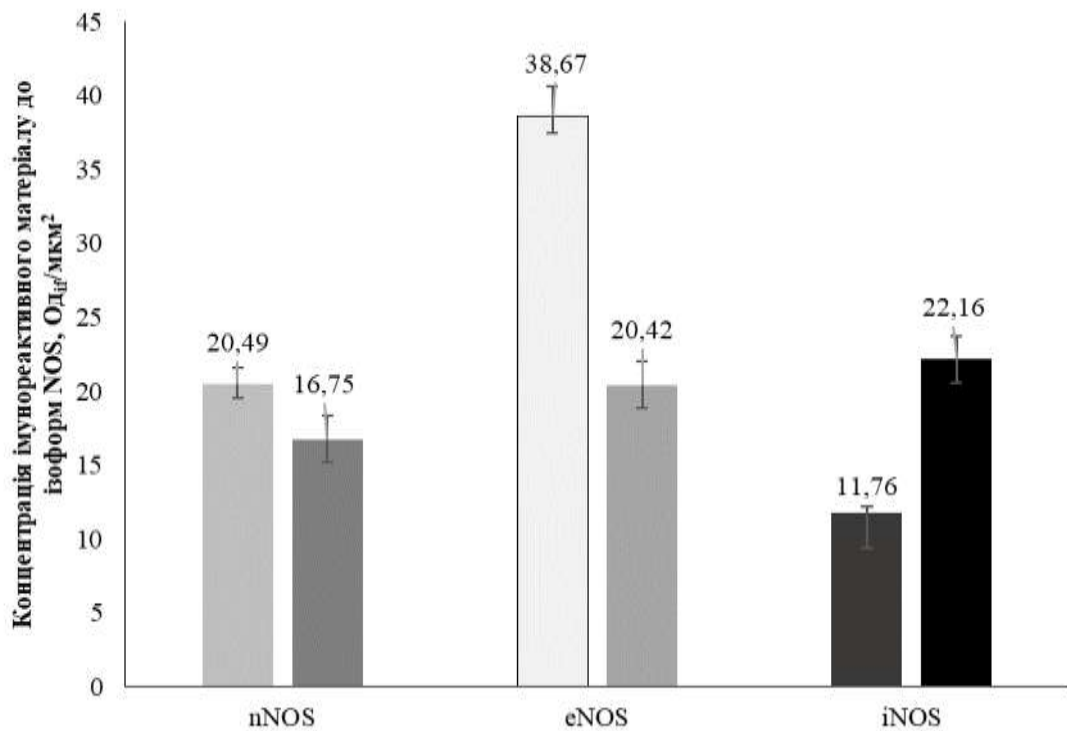
На наступному етапі було проаналізовано особливості стану локальної системи монооксиду азоту у слизовій оболонці ротової порожнини щурів експериментальних груп. Вибір стану локальної системи монооксиду азоту для дослідження особливостей механізмів репарації та регенерації тканин пародонту на фоні ЦД після хірургічних втручань був пов'язаний із важливими та унікальними властивостями молекули NO – відомого регулятора процесів репарації, регенерації, іннервації, трофічних процесів, але, за надмірного утворення індуктора апоптозу, пошкодження клітин, резорбції кісткової тканини та активатора тромбоутворення [37-38, 49].

При цьому аналіз показників експресії ізоформ NOS показав, що у тканинах пародонту контрольних щурів більш представленою за вмістом, концентрацією та питомою площею була eNOS, тоді як у щурів із ЕЦД відмічено нижчі вихідні значення конститутивних ізоформ NOS, але вищі iNOS. Вихідний рівень нітритів у них також майже у 2,5 рази був вищим (рис. 6.5-6.8).



Примітка. nNOS: □ – контроль; ■ – ЕЦД; eNOS: □ – контроль; ■ – ЕЦД;  
iNOS: ■ – контроль; ■ – ЕЦД

Рисунок 6.5 – Вміст імунореактивного матеріалу до ізоформ NOS у пародонті щурів експериментальних груп без екстракції зуба



Примітка. nNOS: □ – контроль; ■ – ЕЦД; eNOS: □ – контроль; ■ – ЕЦД;  
iNOS: ■ – контроль; ■ – ЕЦД

Рисунок 6.6 – Концентрація імунореактивного матеріалу до ізоформ NOS у пародонті щурів експериментальних груп без екстракції зуба

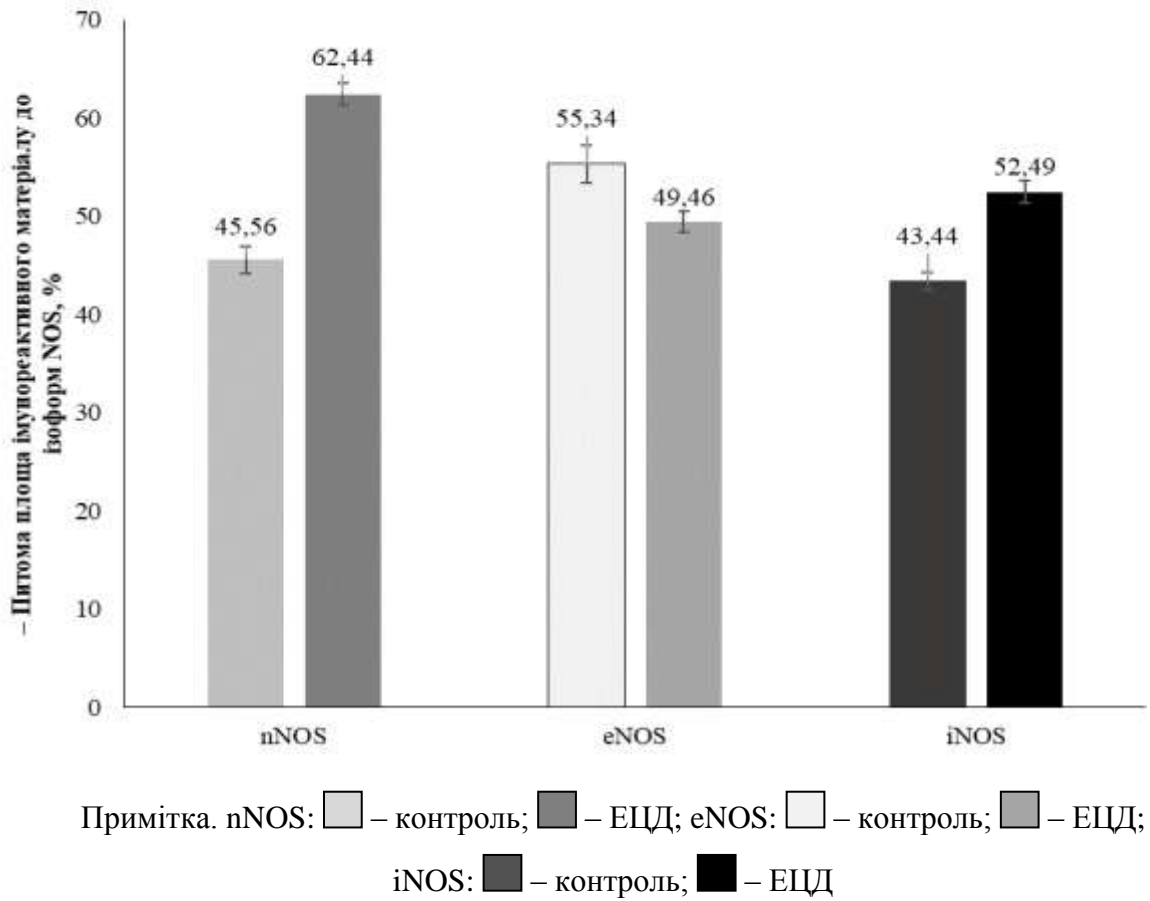


Рисунок 6.7 – Питома площа імунореактивного матеріалу до ізоформ NOS у пародонті щурів експериментальних груп без екстракції зуба

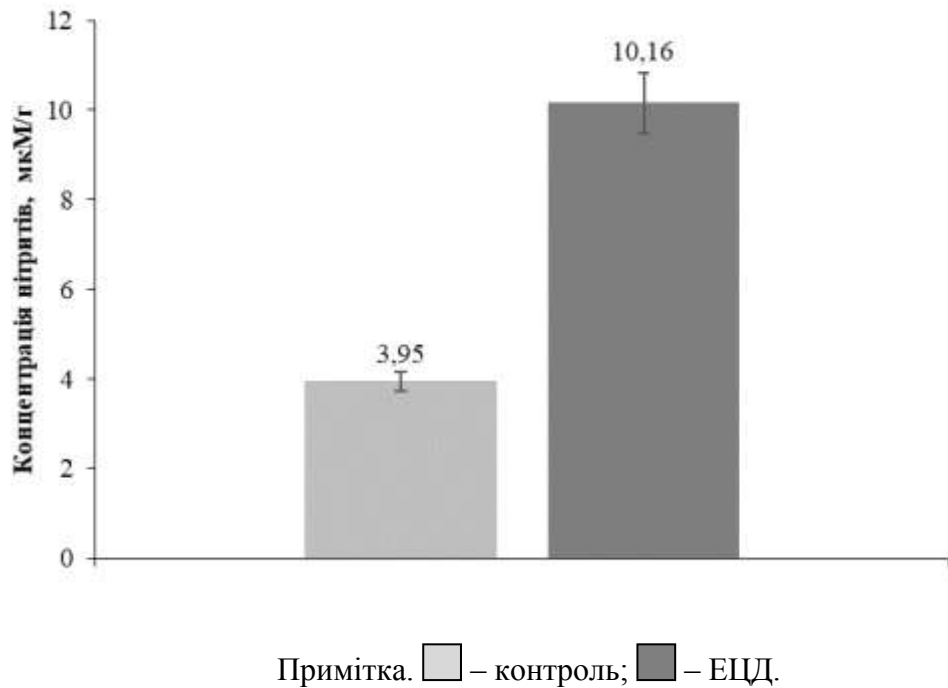


Рисунок 6.8 – Вміст нітритів у пародонті щурів експериментальних груп без екстракції зуба, мкМ/г



Подальший аналіз показників експресії ізоформ NOS у тварин після екстракції зуба показав в групі контрольних щурів на 1-шу добу очікуване зменшення концентрації eNOS та nNOS із підвищенням експресії iNOS; 7-а доба характеризувалася помірним зниженням вмісту nNOS, але підвищенням eNOS та iNOS. Заключний постекстракційний період – 14-а доба показала збільшення вмісту nNOS та суттєве підвищення експресії eNOS. На фоні ЕЦД екстракція зуба показала помірне збільшення показників експресії eNOS та nNOS з 1-ї до 7-ї доби із зниженням на 14-у добу. Показники експресії iNOS на 1-шу та 7-у добу збільшувалися більш ніж у 2 рази, однак очікуваного зниження її експресії на 14-у добу, як у контролі, не відбулося (рис. 6.9 та 6.10).

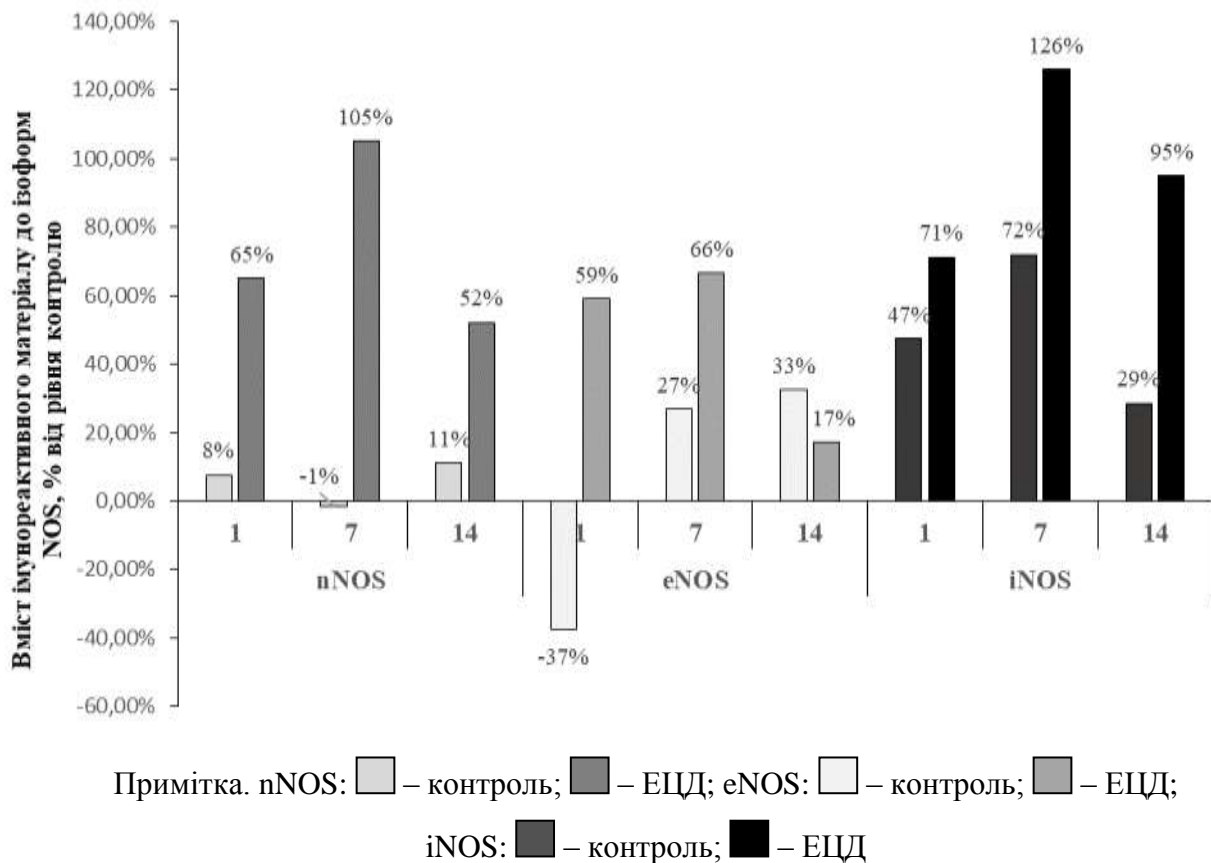


Рисунок 6.9 – Вміст імунореактивного матеріалу до ізоформ NOS у пародонті щурів експериментальних груп у різні терміни після екстракції зуба

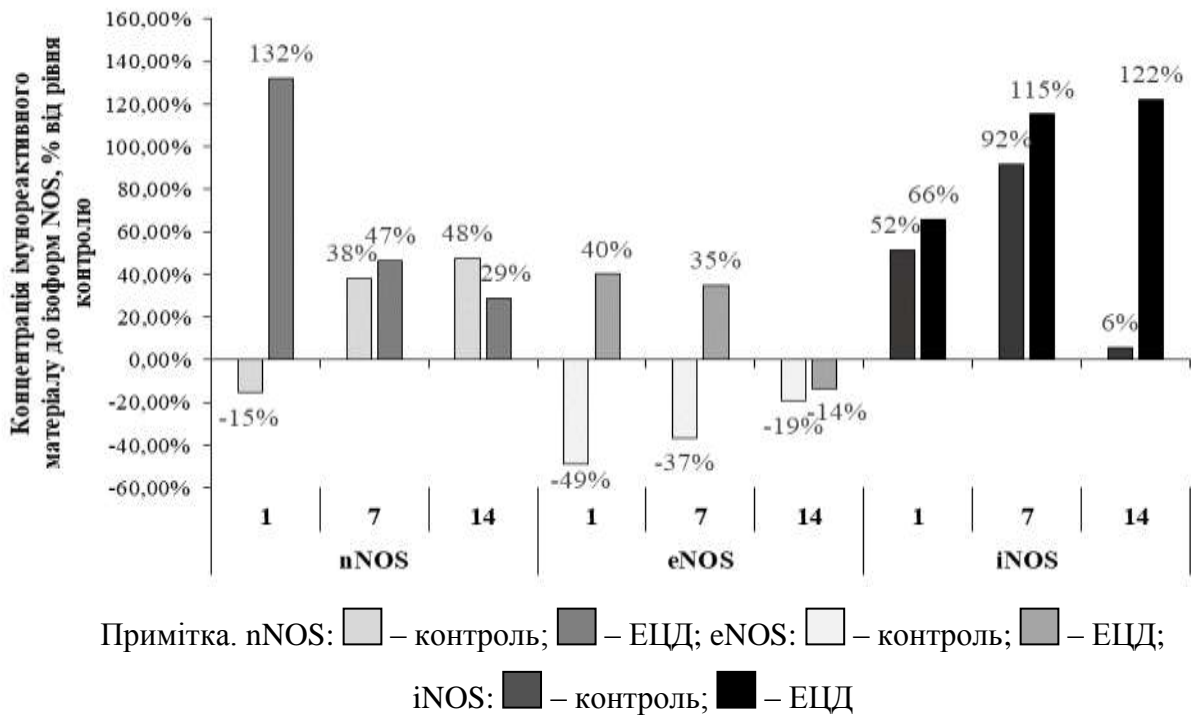


Рисунок 6.10 – Концентрація імунореактивного матеріалу до ізоформ NOS у пародонті щурів експериментальних груп у різні терміни після екстракції зуба

Рівень нітритів у тварин із ЦД через високу вихідну концентрацію у м'яких тканинах пародонту на 1-у добу після екстракційного періоду не змінювався, 7-а доба характеризувалася достовірним зростанням їх концентрації на 20,3 % залишаючись сталою до 14-ї доби, тоді як в контролі відбувалося динамічне зменшення їх концентрації з 1-ї до 14-ї доби (рис. 6.11).

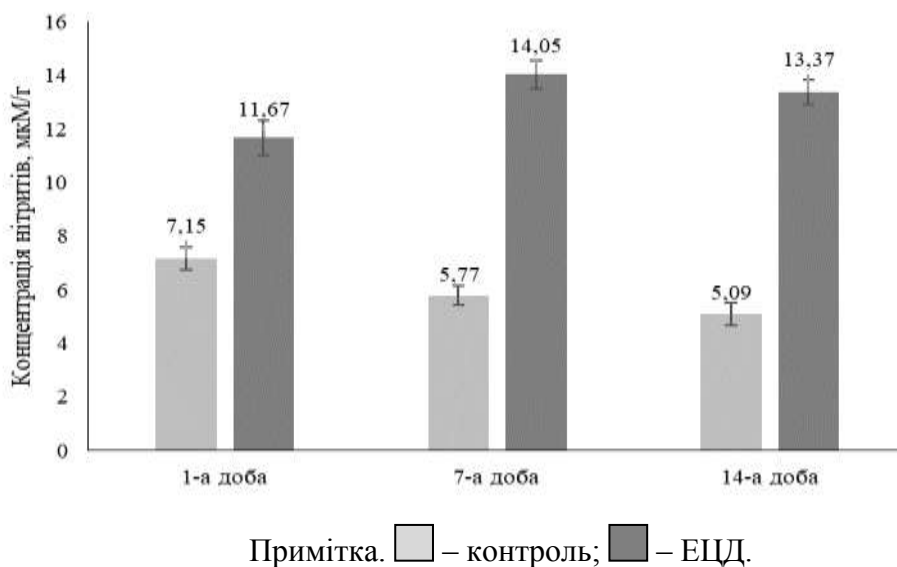


Рисунок 6.11 – Концентрація нітритів у пародонті щурів експериментальних груп у різні терміни після екстракції зуба

Ранні роботи по вивченню ролі NO при запаленні не дозволяли говорити про які-небудь сприятливі або регуляторні ефекти цієї надзвичайно лабільної молекули з дуже коротким періодом життя [37-38]. Більш того, вважали, що її утворення та ефекти необхідні виключно для пошкодження-елімінації патогенних агентів, а надмірне утворення NO при запаленні – ключовий фактор ауто альтерації та формування ускладнень [163-168].

Сьогодні концепція біологічної ролі NO суттєво змінилася. Відкриття ендотеліального фактору релаксації, який представляє собою нітрату сполуку, активним вазодилатуючим компонентом якого є NO [38], встановлення його дезагрегантної активності, нейротрансмітерної та антиоксидантної властивостей підняли цілу хвилю нових перспективних досліджень системи монооксиду азоту [40, 43-49, 146, 161].

На даний час накопичений значний фактичний матеріал про роль NO як в нормі, так і при різноманітних захворюваннях. Цікавим виявився факт регуляції активності процесу утворення NO через певні ізоформи NOS. Відомі три ізоформи nNOS, iNOS та eNOS відрізняються локалізацією, шляхом активації та кількістю утворення NO, являють собою важливу систему ферментів з найбільш складним алгоритмом регуляції [38, 161]. У зв'язку з цим система генерації NO є найбільш чутливою до змін, що відбуваються в організмі [38, 161].

Виходячи із цих фактів логічно припустити, що низькі показники вмісту та концентрації обох конститутивних ізоформ NOS у пародонті при ЕЦД, які були отримані у даному дослідженні, стають підґрунтям не тільки у формуванні мікроангіопатії та периферичної нейропатії, слід очікувати розвиток ускладнень після можливих хірургічних втручань. Саме ці факти неодноразово підтверджували клінічні спостереження, в яких було доведено, що перебіг ранового процесу у пацієнтів, що страждають на цукровий діабет, характеризується пролонгованістю фази запалення та затримкою регенеративних процесів [36]. Тому, встановлений нами факт суттєвого зниження на 14-у добу після екстракції зуба у щурів із ЕЦД показників вмісту і концентрації нейрональної та ендотеліальної NOS свідчить про можливу роль недостатності

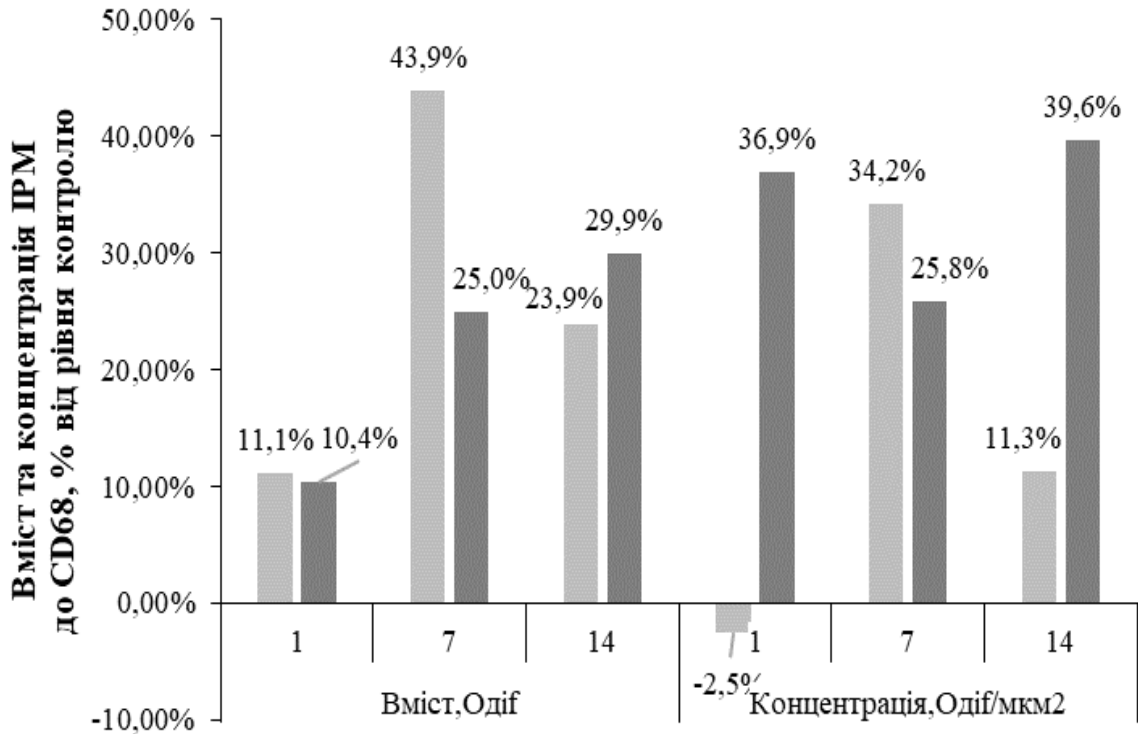
утворення NO у формуванні віддалених ускладнень через порушення васкуляризації, іннервації та репарації тканин пародонту [3-5, 18].

Щодо збільшеного вмісту iNOS є припущення, що саме цей факт свідчить про розвиток вторинної альтерації у тварин із ЕЦД та стає важливим патогенетичним ланцюгом формування пізніх ускладнень: віддалених кровотеч, альвеоліту, абсцедуванню, флегмон, остеомієліту нижньощелепної кістки [163-169].

Так, численні експериментальні дослідження та клінічні спостереження показали, що надмірна активація iNOS викликає синтез високих концентрацій оксиду азоту, що не тільки стимулюють апоптоз та некроз, але гальмують проліферативні процеси. пригнічують транскрипцію та синтез протизапальних факторів, блокують експресію адгезивних молекул ендотелію і хемотаксичних пептидів макрофагів, порушують прилипання, інфільтрацію, агрегацію нейтрофілів і моноцитів [163-169], що і може грати патогенетичну роль у розвитку перерахованих вище ускладнень екстракції зуба у щурів із експериментальним цукровим діабетом.

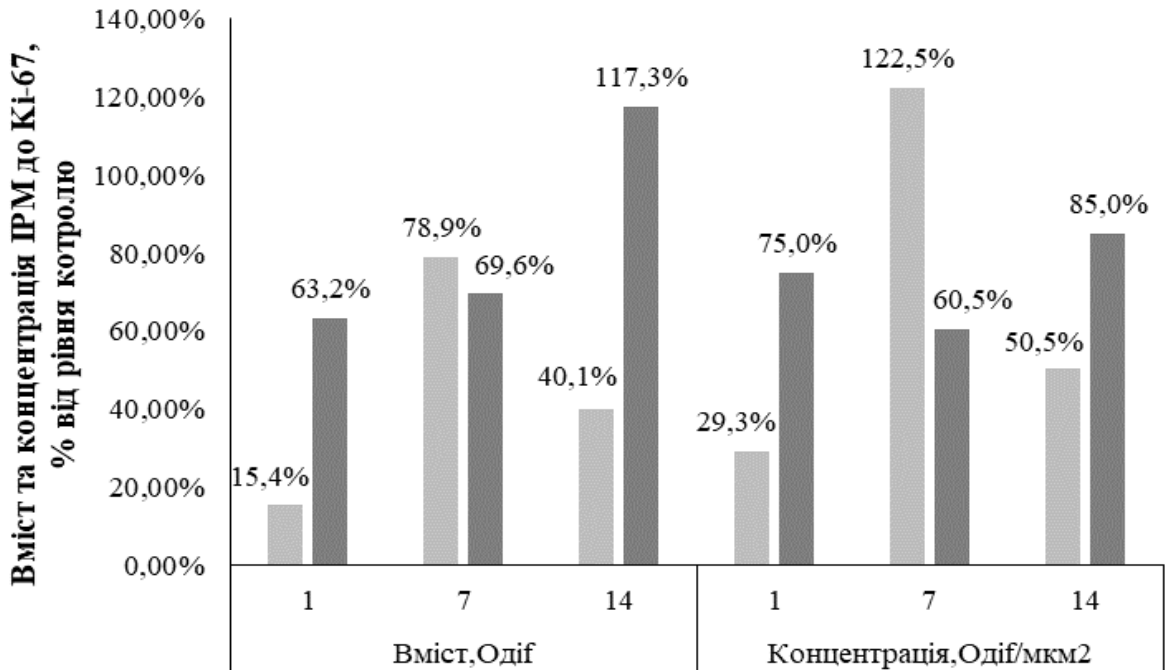
Аналіз проліферативно-репаративних взаємин показав, що в інтактному пародонті практично відсутні активовані макрофаги та дуже низька проліферативна активність, при ЕЦД, навпаки, спостерігалися вихідна значна дифузна інфільтрація CD68-імунопозитивними макрофагами та висока експресія Ki-67 (див. розд. 4 та розд. 5).

За добу після видалення зуба у контрольних щурів та тварин із ЕЦД вміст та концентрація ІРМ до білку CD68 достовірно не змінювались, тоді як експресія Ki-67 – суттєво зростала. 7-а доба показала збільшення параметрів експресії до CD68 та Ki-67 в контролі більш ніж на третину, але незначно при діабеті (рис. 6.12 та 6.13).



Примітка. □ – контроль; ■ – ЕЦД.

Рисунок 6.12 – Вміст та концентрація імунореактивного матеріалу до CD68 у пародонті щурів експериментальних груп



Примітка. □ – контроль; ■ – ЕЦД.

Рисунок 6.13 – Вміст та концентрація імунореактивного матеріалу до Ki-67 у пародонті щурів експериментальних груп

14-а доба в контролі показала зниження CD68 та Ki-67, тоді як при ЕЦД показники вмісту та концентрації білку CD68 не змінювались, а площа ставала дещо більшою. У цей же період – 14-у добу – показники експресії Ki-67 у тварин з ЦД не зменшувалися, як у контролі, а збільшувалися, перевищуючи показники 7-ї доби майже на третину, а відповідного «Контролю-14» за вмістом у 2,26 разів та у 2,4 рази концентрації (див. рис. 6.12 та 6.13). Подібні результати були описані в роботі de Molon R.S. та співавт., які при експериментальному моделюванні резорбції кісткової тканини пародонту показали, що запальний процес та резорбція кісток характеризується двома різними фазами: гостра (0-14 днів), з вираженим запаленням та втратою альвеолярної кістки та хронічна фаза (14-21 доба) [191].

Іншим важливим встановленим фактом було експериментальне доведення наявності високої проліферативної активності у тканинах пародонту щурів із ЕЦД після екстракції зуба. Саме цей факт дає нам змогу припустити, що локальна регенеративна реакція не має тенденцію до завершення після двох тижнів. Більш того, зростаючий тренд показників експресії Ki-67 протягом двох тижнів вказує на прогресування запального процесу та формування ускладнень.

Багаточисельні клінічні спостереження та експериментальні дослідження доводять, що діабет є фактором, який зумовлює виникнення різного роду ускладнення після видалення зуба саме через неефективне загоєння [10-14]. Експериментальні дослідження встановили, що загоєння лунки видаленого зуба при алоксановому діабеті відбувається значно повільніше та супроводжується ускладненнями [86]. Клінічні дослідження показали, що у хворих на цукровий діабет після видалення зуба строки загоєння лунок та характер перебігу після операційного періоду залежить від форми та ступеня важкості діабету, також характеризується подовженням строків загоєння ран та формуванням ускладнень [10-13].

Результат проведеного дослідження показав, що при цукровому діабеті після хірургічного втручання (видалення зуба) висока вихідна проліферативна активність тканин пародонту зберігається та навіть стає ще більшою протягом

тривалого часу. Однак ефективність такої проліферації низька, ремоделювання альвеолярної лунки не завершується через постійне підтримання запального процесу.

Розрахунковий імунорегуляторний індекс за вмістом CD68 та Ki-67 показав, що в контролі, незалежно від терміну після екстракції він завжди складає значення менше одиниці, що свідчить про спрямованість процесу у бік імунного захисту. Цукровий діабет зсуває процес у бік високої проліферації, яку підтримує приховане запалення через нейротрофічні розлади та імунні порушення (рис. 6.14).

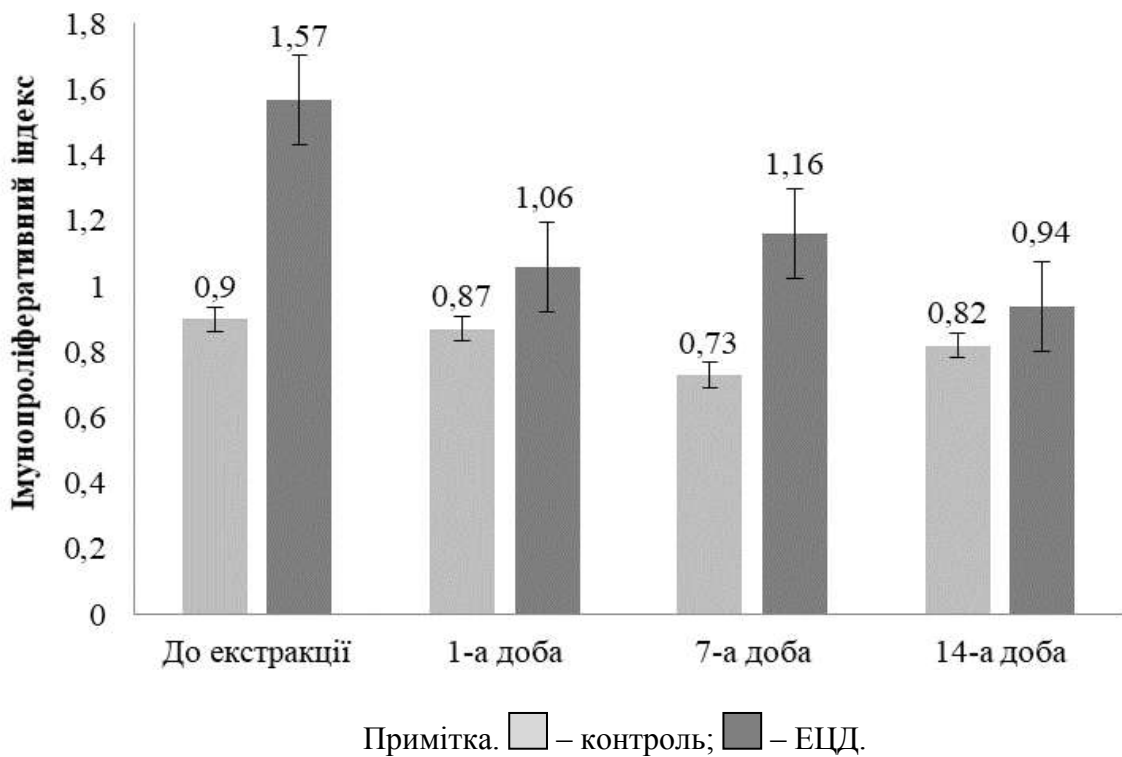


Рисунок 6.14 – Розрахунковий імунпроліферативний індекс спрямованості репаративно-проліферативних взаємин у пародонті щурів експериментальних груп

Саме цей факт стає важливим свідченням та показником формування неефективного запального процесу через надлишкову активність CD68-макрофагів та надмірну але не продуктивну проліферацію переважно фібробластів.

Проведений аналіз рентгенівських знімків напівмандибул щурів показав, що у тварин групи контролю без екстракції зуба відсутні достовірні відмінності RD

тканин інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок, коронок та коренів першого, другого й третього молярів (див. роз. 5).

Разом з тим, сформований цукровий діабет у щурів навіть без хірургічних втручань призводить до посилення резорбтивних процесів в кістковій тканині мандибули, що проявлялося зниженням RD в області кореня 1-го моляру й ІАРП всіх трьох нижніх молярів (рис. 6.15-6.18).

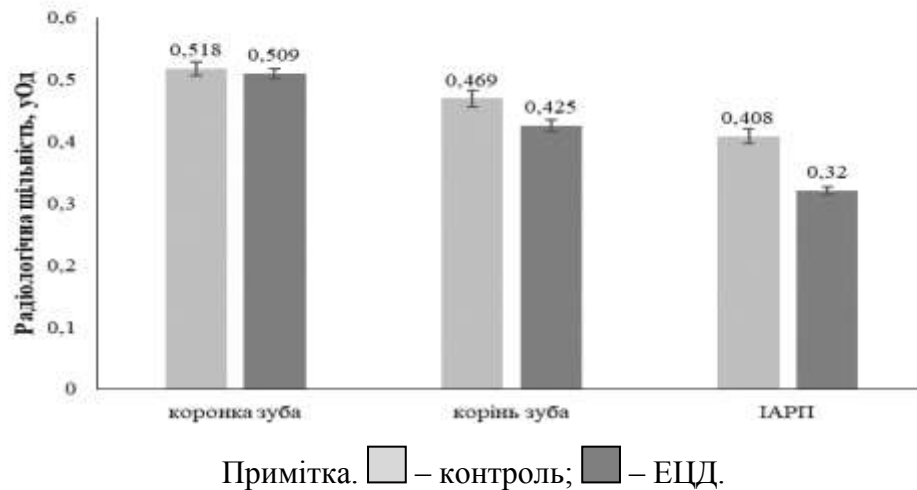


Рисунок 6.15 – Радіологічна щільність параметрів 1-го моляру щурів експериментальних груп без екстракції зуба

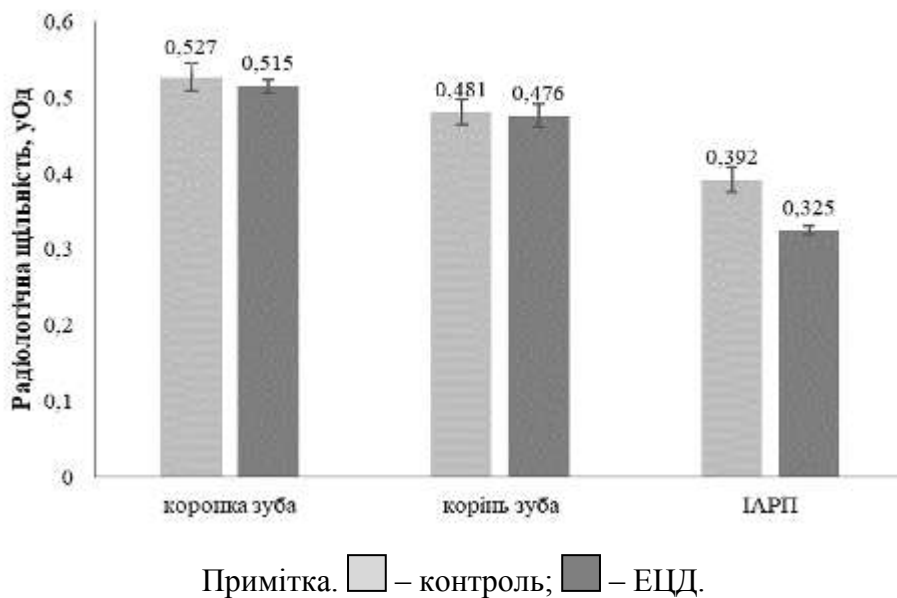
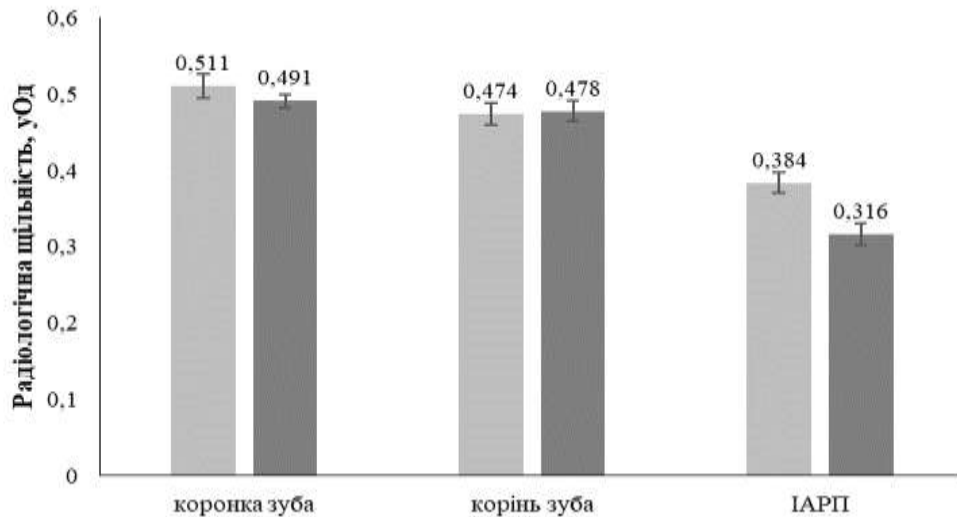


Рисунок 6.16 – Радіологічна щільність параметрів 2-го моляру щурів експериментальних груп без екстракції зуба

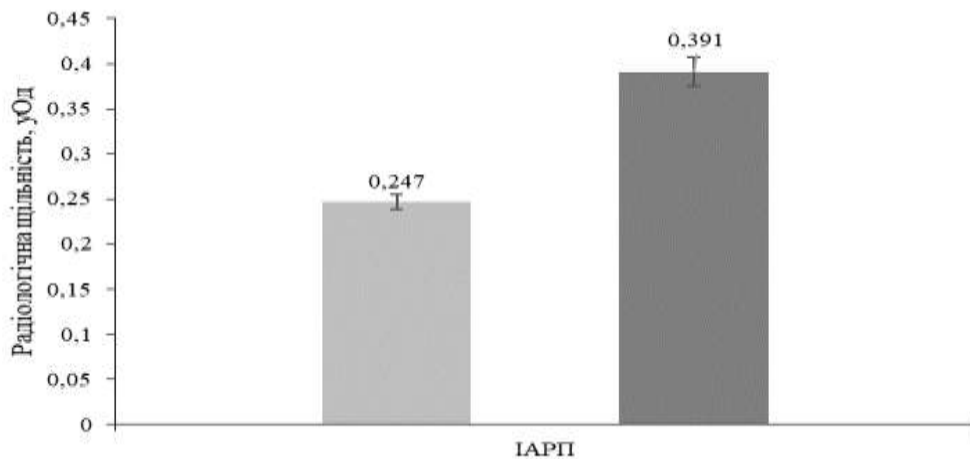




Примітка. □ – контроль; ■ – ЕЦД.

Рисунок 6.17 – Радіологічна щільність параметрів 3-го моляру щурів експериментальних груп без екстракції зуба

Видалення зуба контрольним щурам супроводжувалось динамічними змінами RD не тільки в області екстракції, запальний процес зачіпав оточуючі 2-й та 3-й моляри, призводячи до зниження радіологічної щільності в ділянках ІАРП. У щурів з ЕЦД навпаки відбувалося підвищенням RD в зоні ІАРП 1-го, 2-го та 3-го молярів, що, ймовірно, було пов'язано із виразним набряком (6.18-6.20).



Примітка. □ – контроль; ■ – ЕЦД.

Рисунок 6.18 – Радіологічна щільність ІАРП в області 1-го видаленого моляру щурів експериментальних груп на 1-у добу після екстракції

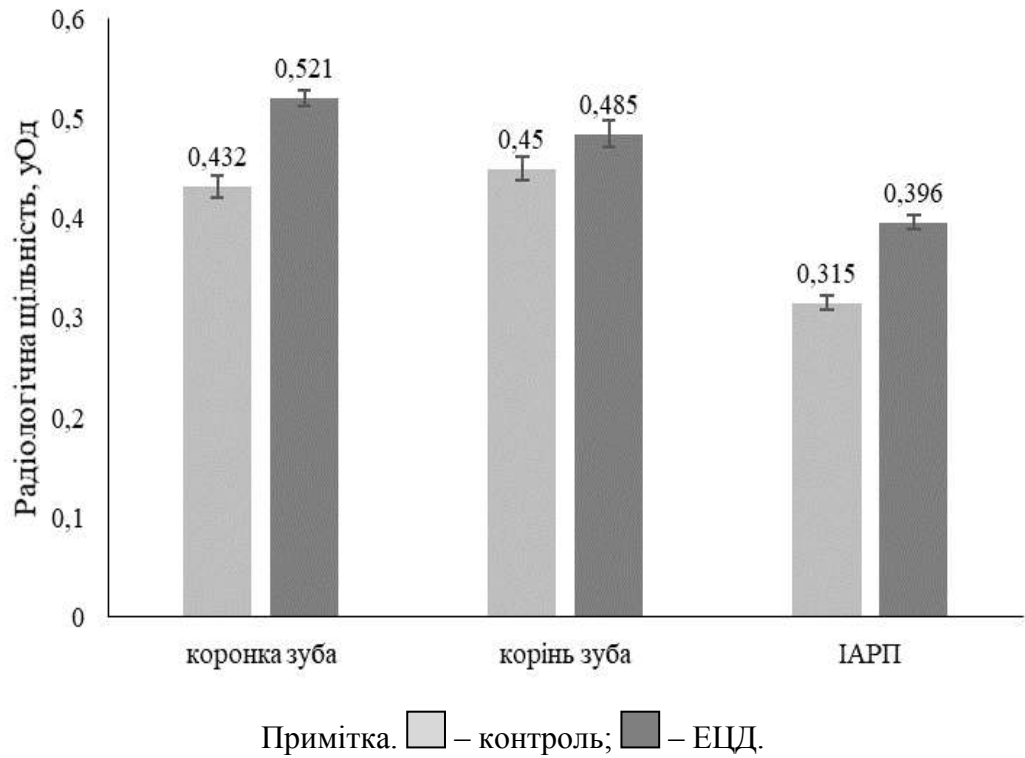


Рисунок 6.19 – Радіологічна щільність параметрів 2-го моляру щурів експериментальних груп на 1-у добу після екстракції зуба

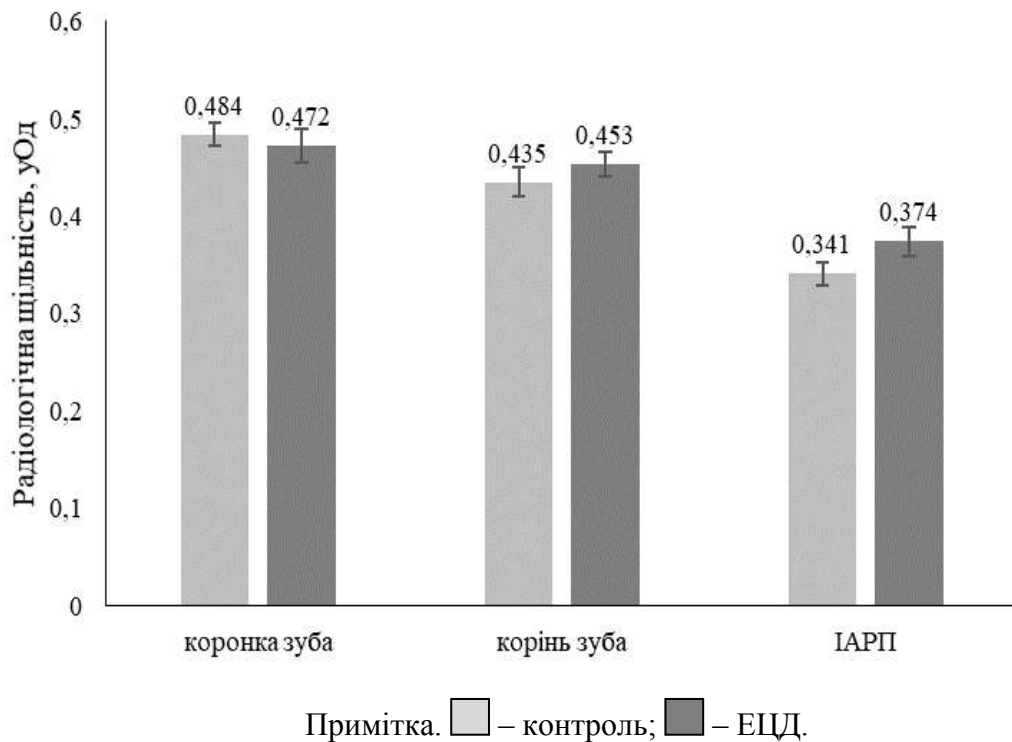


Рисунок 6.20 – Радіологічна щільність параметрів 3-го моляру щурів експериментальних груп на 1-у добу після екстракції зуба

На 7-у добу у контрольних щурів – рання резорбтивна фаза місцевої запальної реакції закінчувалась, тоді як у тварин з діабетом вона продовжувалась та характеризувалась зниженням радіологічної щільності в області ІАРП 2-го й 3-го молярів та у ділянці кореня 2-го моляра на 13,5 % (рис. 6.21-6.23).

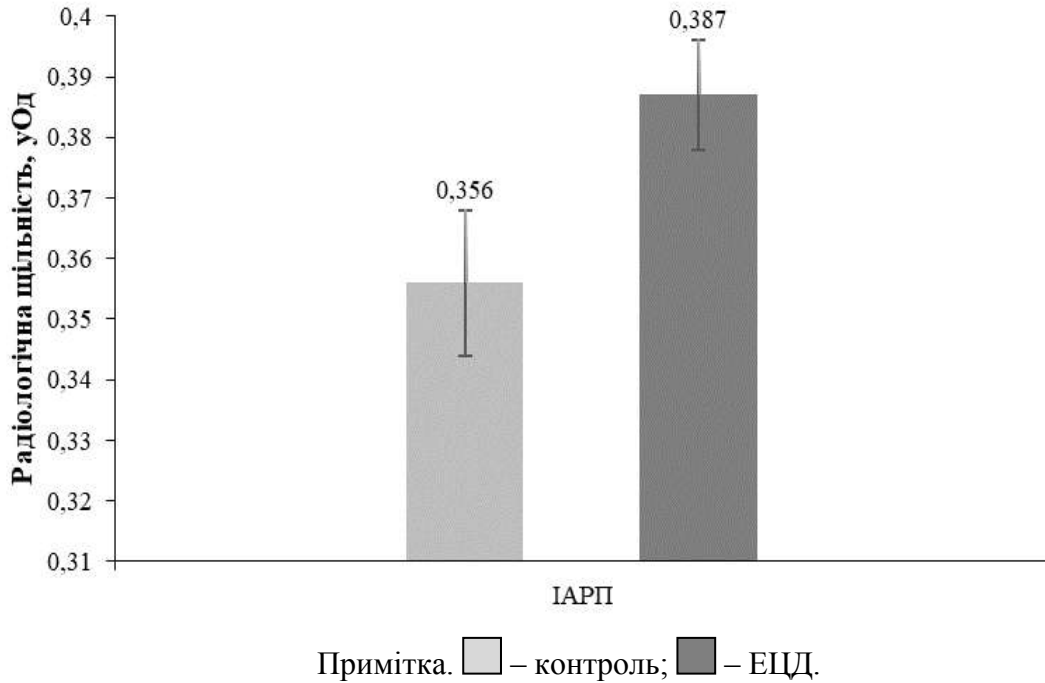


Рисунок 6.21 – Радіологічна щільність ІАРП в області 1-го видаленого моляру щурів експериментальних груп на 7-у добу після його екстракції

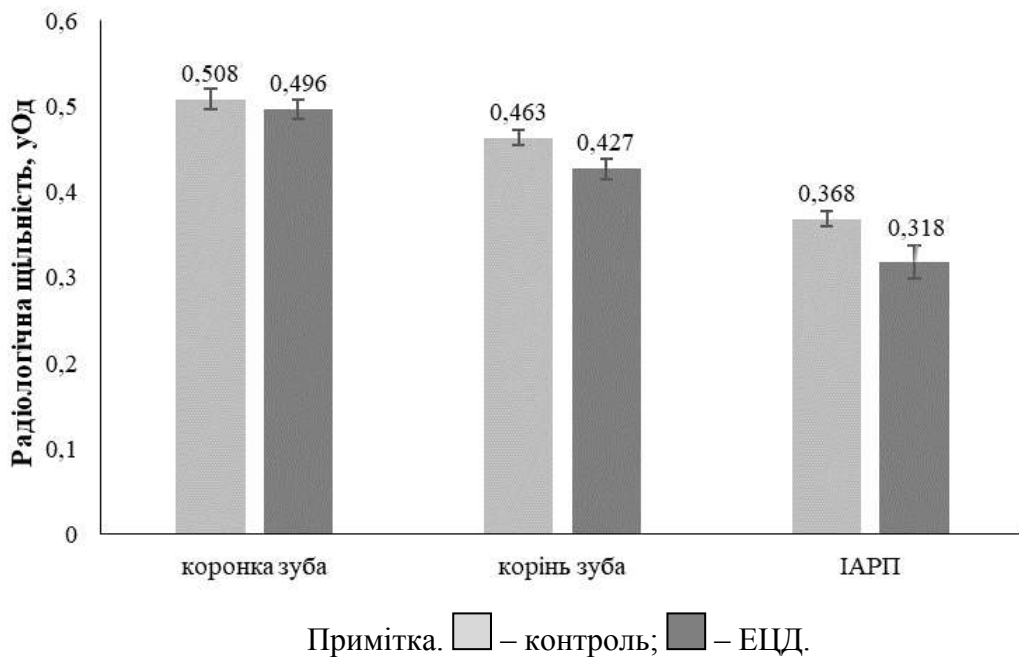


Рисунок 6.22 – Радіологічна щільність параметрів 2-го моляру щурів експериментальних груп на 7-у добу після екстракції зуба

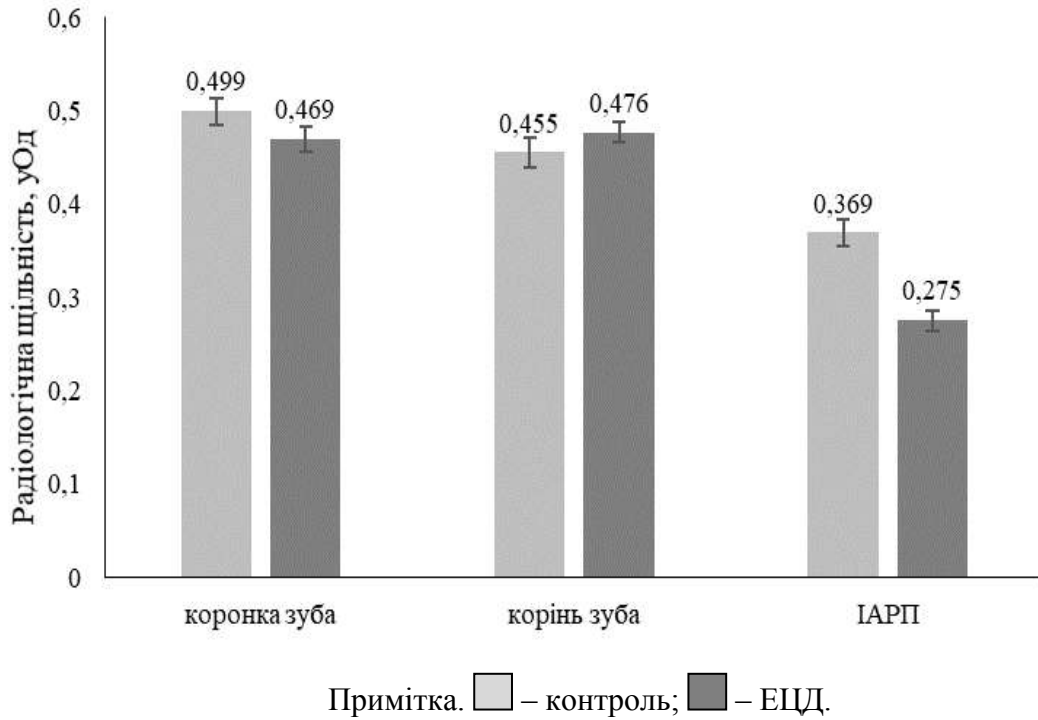


Рисунок 6.23 – Радіологічна щільність параметрів 3-го моляру щурів експериментальних груп на 7-у добу після екстракції зуба

14-а доба спостереження показала в контролі завершення, а при діабеті – пролонгацію запального процесу, оскільки відбулося зниження показника RD в області альвеолярної лунки та IAPD 1-го моляра, коронки та кореня 2-го моляру та кореня 3-го (6.24-6.26).

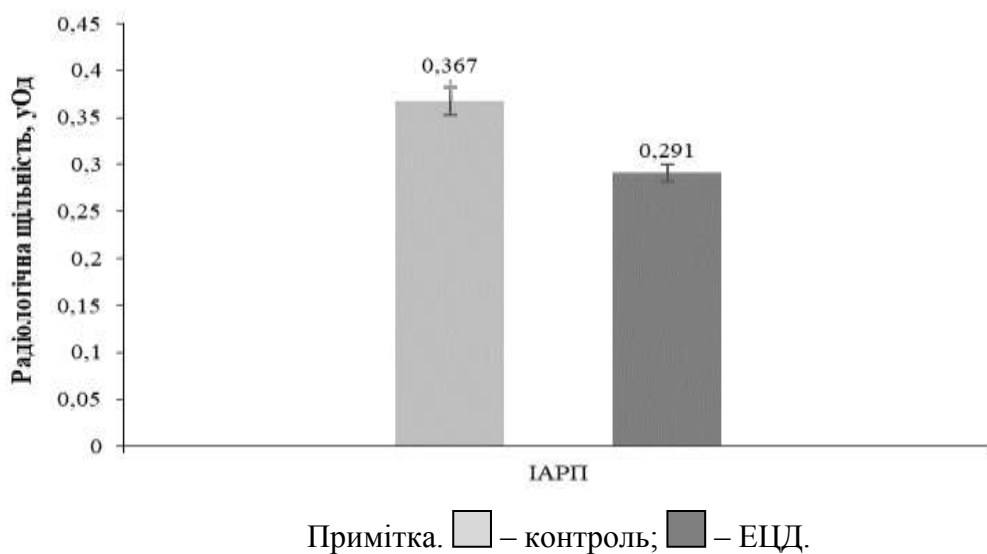


Рисунок 6.24 – Радіологічна щільність IAPD в області 1-го видаленого моляру щурів експериментальних груп на 14-у добу після його екстракції, уОд

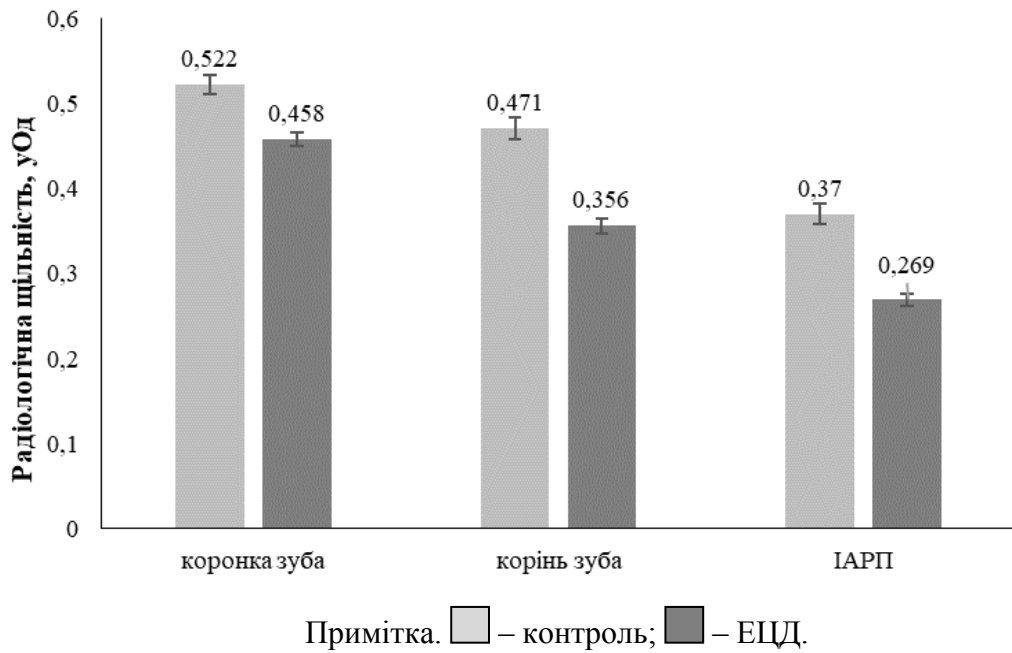


Рисунок 6.25 – Радіологічна щільність параметрів 2-го моляру щурів експериментальних груп на 14-у добу після екстракції зуба

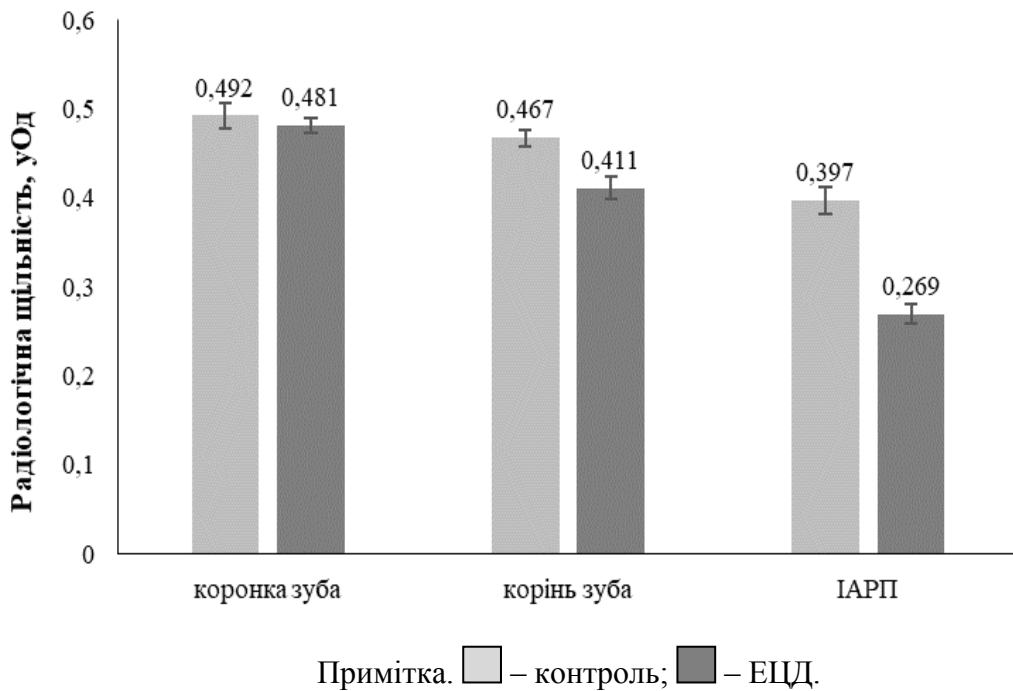


Рисунок 6.26 – Радіологічна щільність параметрів 3-го моляру щурів експериментальних груп на 14-у добу після екстракції зуба

Вивчені в роботі особливості динаміки зміни показників радіологічної щільності кісткових тканин мандибули після видалення зуба на тлі ЦД в різні

терміни постекстракційного періоду стали непрямим підтвердженням вже добре доведених фактів про ключову роль цукрового діабету, як патогенетичного фактору, що істотно змінює характер перебігу ранового процесу, порушує стадійності фаз запалення, їх тривалості та ефективності. Ймовірно, підвищення, а не зниження показника RD на 1-у добу в області альвеолярної лунки та поруч розташованих 2-го та 3-го молярів, може бути наслідком значної інфільтрації, пов'язаної з розвитком вираженої вторинної альтерації. Але і завершальний етап резорбтивної фази місцевої запальної реакції на фоні цукрового діабету також мав свої особливості. Так, в контролі на 7-у добу постекстракційного періоду відмічалось майже повне відновлення RD, тоді як в групі «Діабет-7» навпаки, радіологічна щільність вивчених ділянок знижувалася, причому цей процес тривав і на 14-у добу. Встановлений факт свідчить про прогресування резорбтивних процесів на тлі неефективного відновлення кісткової тканини.

Крім виявлених особливостей перебігу запального процесу проведене дослідження показало роль ЕЦД в формуванні віддалених ускладнень у вигляді підвищеної рухливості поруч розташованих зубів. Про це свідчило зниження, а не підвищення, показника RD в області ІАРП, які, будучи частиною апарату, що підтримує зуб, в нормі забезпечують не тільки стабільність його положення в кістки, також доведена їх трофічна функція, завдяки рясної васкуляризації і наявності великої кількості нервових закінчень [192].

Таким чином, можна констатувати, що видалення зуба щурам з нормальними показниками вуглеводного обміну супроводжується динамічними змінами радіологічної щільності не тільки в області екстракції, запальний процес зачіпає оточуючі 2-й і 3-й моляри, приводячи до її зниження. При цьому рання резорбтивна фаза місцевої запальної реакції закінчується до 7-ї доби постекстракційних періоду, змінюючись до 14-ї доби на репаративну.

Розвиток експериментального цукрового діабету у щурів призводить до посилення резорбтивних процесів в кістковій тканині мандибули, що проявляється зниженням RD в області кореня 1-го моляра і ІАРП всіх трьох нижніх молярів. Більш того, він вносить свій внесок в особливості перебігу

ранового процесу після видалення зуба та стає важливою патогенетичною ланкою формування ускладнень через порушення резорбційно-репаративних взаємин в області альвеолярної лунки і прилеглих молярів.

Ґрунтуючись на даних літератури та проведених досліджень можна стверджувати, що у патогенезі формування ускладнень при ЦД після хірургічних втручань, ключову роль відіграє цілий комплекс процесів, а саме: порушення стану локальної системи монооксиду азоту слизової оболонки із надмірним утворенням iNOS, що у поєднанні із макрофагальною інфільтрацією CD68 імунопозитивними клітинами, пролонгує вторинну альтерацію, порушують васкуляризацію та іннервацію тканин. Результатом цього стає хронізація запального процесу, неефективна та надмірна проліферація фібробластів із порушенням резорбційно-репаративних взаємин та кісткової мінералізації (рис. 6.27).



Рисунок 6.27 – Ключові умови адекватного перебігу репаративних процесів постекстракційної лунки

## ВИСНОВКИ

Цукровий діабет являє собою стоматологічну проблему, оскільки впливає на стан зубо-щелепної системи. До теперішнього часу недостатньо вивчені механізми розвитку ускладнень після екстракції зубів у хворих на цукровий діабет, зважаючи на особливості стану системи монооксиду азоту, місцевого імунітету, спрямованості репаративних процесів та кісткового метаболізму. Не з'ясовані основні ланки репаративних процесів та механізмів їх порушення при екстракції зуба на тлі цукрового діабету. В дисертаційній роботі вирішується актуальне питання сучасної патологічної фізіології щодо патогенетичних особливостей репаративного компонента постекстракційної альвеолярної лунки за умов експериментального цукрового діабету в залежності від терміну після екстракції зуба.

1. У тканинах пародонту контрольних щурів більш представленою за вмістом, концентрацією та питомою площею є eNOS, в той час, як у щурів із експериментальним цукровим діабетом відмічено нижчі вихідні значення конститутивних NOS (ендотеліальної та нейрональної), але вищі – iNOS. Постекстракційний період в групі контрольних щурів має типовий перебіг, характеризується на 1-шу добу підвищенням рівня нітритів у 1,8 рази, зменшенням концентрації eNOS та nNOS із підвищенням експресії iNOS; на 7-у добу визначається помірне зниження концентрації нітритів та вмісту nNOS, але підвищення вмісту eNOS та iNOS. На 14-у добу у заключному постекстракційному періоді має місце подальше зниження рівня нітритів та iNOS на фоні збільшення вмісту nNOS та суттєвого підвищення експресії eNOS.

2. Екстракція зуба на тлі експериментального цукрового діабету характеризується помірним збільшенням показників експресії eNOS та nNOS з 1-ї до 7-ї доби із зниженням цих показників на 14-у добу. Показники експресії iNOS на 1-шу та 7-у добу збільшуються більш ніж у 2 рази, однак очікуваного зниження її експресії на 14-у добу, як у контролі, не відбувається. Рівень нітритів, через високу вихідну концентрацію у м'яких тканинах пародонту, на 1-у добу постекстракційного періоду не змінюється, 7-а доба характеризується



достовірним зростанням їх концентрації на 20,3 % і залишається сталою до 14-ї доби.

3. У інтактному пародонті практично відсутні CD68-імунопозитивні макрофаги, при експериментальному цукровому діабеті, навпаки, спостерігається вихідна значна дифузна інфільтрація. Через добу після видалення зуба у контрольних щурів та тварин із цукровим діабетом вміст та концентрація ІРМ до CD68 достовірно не змінюються; на 7-у добу після екстракції зуба у контрольних тварин показники експресії CD68 збільшуються більш ніж на третину, а у щурів з експериментальним цукровим діабетом – збільшуються тільки на 13 %; на 14-у добу у контрольних тварин показники експресії CD68 знижуються, а у щурів з цукровим діабетом спостерігається достовірне збільшення площі експресії на 6,2 % порівняно із відповідним контролем.

4. У щурів контрольної групи без екстракції зуба проліферативна активність у м'яких тканинах пародонту дуже низька, візуально виявляються поодинокі клітини із експресією Ki-67. При експериментальному цукровому діабеті, навпаки, у пародонті характерна висока проліферативна активність переважно фібробластів. Екстракція зуба контрольним щурам призводить до підвищення експресії Ki-67 вже на 1-у добу постекстракційного періоду, показники досягають пікових значень на 7-добу із їх зниженням на 14-у добу. Екстракція зуба тваринам із експериментальним цукровим діабетом вже на 1-у добу призводить до суттєвого підвищення експресії Ki-67, з 7-ї до 14-ї доби показники експресії Ki-67 не зменшуються, а збільшуються, перевищуючи показники 7-ї доби майже на третину, а у порівнянні з 14-денним контролем інтенсивність експресії збільшилася більш ніж у 2 рази за вмістом та концентрацією.

5. У щурів групи контролю без екстракції зуба відсутні достовірні відмінності радіологічної щільності тканин інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок, коронок та коренів першого, другого й третього молярів. Видалення їм зуба супроводжується динамічними змінами радіологічної щільності не тільки в зоні екстракції, запальний процес розповсюджується на 2-й та 3-й моляри, призводячи до зниження радіологічної

щільності в ділянках інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок зубів. За цих умов, рання резорбтивна фаза місцевої запальної реакції закінчується до 7-ї доби постекстракційного періоду і змінюється до 14-ї доби на репаративну фаза, яка характеризується відновленням показника радіологічної щільності до вихідних значень.

6. Сформований цукровий діабет у щурів навіть без хірургічних втручань призводить до посилення резорбтивних процесів в кістковій тканині мандибули, що проявляється зниженням радіологічної щільності в зоні кореня 1-го моляру й інтеральвеолярних та інтєррадикулярних перетинок всіх трьох нижніх молярів. Після екстракції зуба у щурів з експериментальним цукровим діабетом на 1-у добу спостерігається підвищення радіологічної щільності в зоні інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок 1-го, 2-го та 3-го молярів, на 7-у добу - зниження радіологічної щільності в зоні інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок 2-го й 3-го молярів та у ділянці кореня 2-го моляра на 13,5 %. На 14-а добу відмічається пролонгація запального процесу, оскільки показник радіологічної щільності знижується в зоні альвеолярної лунки та інтеральвеолярних та інтєррадикулярних кісткових перетинок 1-го моляра, коронки та кореня 2-го моляру та кореня 3-го моляру.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. World Health Organization. Diabetes facts. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.
2. World Health Organization. Global report on diabetes. URL: <https://www.who.int/diabetes/global-report/en/>.
3. Association between perceived oral and general health. D. R. Reissmann, M. T. John, O. Schierz, et al. *J. Dent.* 2013. Vol. 41. № 7. P. 581-589.
4. Александров Е.И. Микрофлора и иммунологическая резистентность при кариесе зубов заболеваний пародонта на фоне сахарного диабета. *Медико-соціальні проблеми сім'ї*. 2014. Т. 19, № 1. С. 109-114.
5. Ashanka Bhardwaj, Mehak Dogra, Sukrant Sharma, Sambit Prasad, Raashiv Bhardwaj. Oral mucosal lesions prevalence among diabetic patients at Jammu, India. *Global Journal For Research Analysis*. 2019. Vol. 8. №6.
6. Новицкая И.К. Распространенность и интенсивность стоматологической патологии у больных сахарным диабетом. *Інновації в стоматології*. 2014. №1. С. 11-13.
7. Румянцева Е.В. Стоматологическое здоровье у больных с сахарным диабетом. *Успехи современного естествознания*. 2014. № 6. С. 58-59.
8. Bastos A.S. Diabetes mellitus and oral mucosa alterations: prevalence and risk factors. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2011. Vol. 92. P. 100-105.
9. Apoorva B. Badiger, Triveni. M. Gowda, Khyati ChanRDa, Dhoom Singh Mehta. Bilateral interrelationship of diabetes and periodontium. *Current Diabetes Reviews*. 2019. Vol. 15.
10. Batista M. J. Impact of tooth loss related to number and position on oral health quality of life among adults. *Health Qual Life Outcomes*. 2014. Vol. 12. Art. 165.
11. Jindal A. Relationship between severity of periodontal disease and control of diabetes (glycated hemoglobin) in patients with type 1 diabetes mellitus. *J. Int. Oral Health*. 2015. Vol. 7, suppl. 2. P. 17-20.

12. Гройзик К.Л. Хирургическое лечение гнойно-некротических осложнений сахарного диабета. *Таврический медико-биологический вестник*. 2014. Том 17. №2 (66).
13. D.J. Power, P.J. Sambrook, A.N. Goss. The healing of dental extraction sockets in insulin- dependent diabetic patients: a prospective controlled observational study. *Australian Dental Association*. 2019. Vol. 64(1). P. 111-116.
14. Heilmeyer U. Diabetes and bone. *Semin. Musculoskelet. Radiol*. 2016. Vol. 20. № 3. P. 300–304.
15. Рунге Р.И. Новые подходы к организации стоматологической помощи больным сахарным диабетом. *Врачаспирант*. 2013. № 3. С. 163-168.
16. Антошук Р.Я. Цукровий діабет: етіологія захворювання. *Молодий вчений*. 2016. № 6 (33). С. 277-280.
17. Dorfer C. Oral inflammation and systemic health: is the association only an artefact? *International Journal of Dental Hygiene*. 2006. Vol. 4. P. 26-33.
18. Medici M., Miotti A., Strumia R. Gingival microangiopathy in insulin-dependent diabetics. *Minerva Stomatologica*. 1982. Vol. 31. № 2. P. 215-219.
19. Пущенко А.И., Тихонова К.М., Викторов А.Л., Щербак А.В. Роль диабетических микроангиопатий в развитии пародонтита и их предпосылка у больных сахарным диабетом. *Стоматология*. 1987. Вып. 22. С. 59-62.
20. Shi Y., Vanhoutte P.M. Macro- and microvascular endothelial dysfunction in diabetes. *Journal of Diabetes*. 2017. Vol. 9. №5. P. 434-449.
21. Fadini G.P., Albiero M., Bonora B.M., Avogaro A. Angiogenic abnormalities in diabetes mellitus: mechanistic and clinical aspects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2019. Vol. 1.
22. Creager M., Lüscher T.F. Diabetes and Vascular Disease Pathophysiology, Clinical Consequences, and Medical Therapy. *Circulation*. 2003. Vol. 108. P. 1527–1532.
23. Балаболкин М. И. Роль гликирования белков, окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений при сахарном диабете. *Сахарный диабет*. 2002. № 4. С. 8-16.

24. Farkouh M.E., Domanski M. Strategies for multivessel revascularization in patients with diabetes. *The New England Journal of Medicine*. 2012. Vol. 367. № 25. P. 2375-2384.
25. Karam B.S., Chavez-Moreno A. Oxidative stress and inflammation as central mediators of atrial fibrillation in obesity and diabetes. *Cardiovascular Diabetology*. 2017. Vol. 16. № 120.
26. Chin J.A., Sumpio B.E. Diabetes mellitus and peripheral vascular disease: diagnosis and management. *Clinics in podiatric medicine and surgery*. 2014. Vol. 31(1). P. 11-26.
27. Tousoulis D., Kampoli A.M., Stefanadis C. Diabetes mellitus and vascular endothelial dysfunction: current perspectives. *Current Vascular Pharmacology*. 2012. Vol. 10(1). P. 19-32.
28. Prusty P., Saini J.S. Angiopathy in diabetes mellitus. *The Journal of the Association of Physicians of India*. 1995. Vol. 43(2). P. 111-114.
29. Gu Y., Dennis S.M. Are falls prevention programs effective at reducing the risk factors for falls in people with type-2 diabetes mellitus and peripheral neuropathy: A systematic review with narrative synthesis. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2017. Vol. 31(2). P. 504-516.
30. Vinik A.I., Nevoret M.L., Casellini C., Parson H. Diabetic neuropathy. *Endocrinology and Metabolism Clinics in North America*. 2013. Vol. 42(4). P. 747-87.
31. Sifuentes-Franco S., Pacheco-Moisés F.P. The Role of Oxidative Stress, Mitochondrial Function, and Autophagy in Diabetic Polyneuropathy. *Journal of Diabetes Research*. 2017. Epub.
32. Cellek S., Qu W., Schmidt A.M., Moncada S. Synergistic action of advanced glycation end products and endogenous nitric oxide leads to neuronal apoptosis in vitro: a new insight into selective nitroergic neuropathy in diabetes. *Diabetologia*. 2004. Vol. 47(2). P. 331-339.
33. Mise K., Ueno T., Hoshino J. Nodular lesions in diabetic nephropathy: Collagen staining and renal prognosis. *Diabetes research and clinical practice*. 2017. Vol. 127. P. 187-197.

34. Kizub I.V., Klymenko K.I., Soloviev A.I. Protein kinase C in enhanced vascular tone in diabetes mellitus. *International Journal of Cardiology*. 2014. Vol. 174(2). P. 230-242.
35. Monteyne T., Coopman R., Kishabongo A.S. Analysis of protein glycation in human fingernail clippings with near-infrared (NIR) spectroscopy as an alternative technique for the diagnosis of diabetes mellitus. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2018. Vol. 56(9). P. 1551-1558.
36. Ефимов Е.В., Шапкин Ю.Г. Метаболические нарушения в основе расстройств регенерации при сахарном диабете. *Земский врач*. 2014. № 2 (23). С. 26-28.
37. Jamwal S., Sharma S. Vascular endothelium dysfunction: a conservative target in metabolic disorders. *Inflammation Research*. 2018. Vol. 67(5). P. 391-405.
38. Costa E.D., Rezende B.A., Cortes S.F. Neuronal Nitric Oxide Synthase in Vascular Physiology and Diseases. *Front Physiology*. 2016. Vol. 7. P. 206.
39. Thippeswamy T., McKay J.S., Quinn J.P. Nitric oxide, a biological double-faced janus – is this good or bad? *Histology and Histopathology*. 2006. Vol. 21. №4. P. 445–458.
40. Assmann T.S., Brondani L.A., Bouças A.P. Nitric oxide levels in patients with diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry*. 2016. Vol. 30. № 61. P. 1-9.
41. Farkas K., Sárman B., Jermendy G., Somogyi A. Endothelial nitric oxide in diabetes mellitus: too much or not enough? *Diabetes, Nutrition and Metabolism*. 2000. Vol. 13. № 5. P. 287-297.
42. Traub O., Van Bibber R. Role of nitric oxide in insulin-dependent diabetes mellitus-related vascular complications. *Western Journal of Medicine*. 1995. Vol. 162. № 5. P. 439-445.
43. Witte M.B., Kiyama T., Barbul A. Nitric oxide enhances experimental wound healing in diabetes. *British Journal of Surgery*. 2002. Vol. 89(12). P. 1594-1601.
44. Honing M.L., Morrison P.J., Banga J.D. Nitric oxide availability in diabetes mellitus. *Diabetes Metabolism Reviews*. 1998. Vol. 14(3). P. 241-249.

45. Buck A., Kayacelebi A.A., Chobanyan-Jürgens K. Comprehensive analysis of the L-arginine/L-homoarginine/nitric oxide pathway in preterm neonates: potential roles for homoarginine and asymmetric dimethylarginine in foetal growth. *Amino Acids*. 2017. Vol. 49(4). P. 783-794.

46. Ogata H., Yatabe M., Misaka S. Effect of oral L-arginine administration on exhaled nitric oxide (NO) concentration in healthy volunteers. *Fukushima Journal of Medical Science*. 2013. Vol. 59(1). 43-48.

47. Naseem K.M. The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. *Molecular Aspects of Medicine*. 2005. Vol. 26(1-2). P. 33-65.

48. West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med*. 2000. Vol. 17. P. 171-180.

49. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991. Vol. 43. P. 109-142.

50. Ялочкина Т.О., Пигарова Е.А. Сахарный диабет и консолидация переломов. *Ожирение и метаболизм*. 2013. Т. 2. С. 19-21.

51. Lozano D., Fernández-de-Castro L., Portal-Núñez S. The C-terminal fragment of parathyroid hormone-related peptide promotes bone formation in diabetic mice with low-turnover osteopaenia. *British Journal of Pharmacology*. 2011. Vol. 162(6). P. 1424-1438.

52. Taylor W.H., Khaleeli A.A. Coincident diabetes mellitus and primary hyperparathyroidism. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. 2001. Vol. 17(3). P. 175-180.

53. Yamamoto M., Sugimoto T. Advanced Glycation End Products, Diabetes, and Bone Strength. *Current Osteoporosis Reports*. 2016. Vol. 14(6). P. 320-326.

54. Ялочкина Е.О., Пигарова Т.А. Сахарный диабет и консолидация переломов. *Ожирение и метаболизм*. 2013. Т. 2. С. 19-21.

55. Шапкин Ю. Г., Ефимов Е. В., Хорошкевич А. В. Современные возможности биохимического и морфологического мониторинга репарации ран больных сахарным диабетом. *Вестник ВОЛГ ГМУ*. 2014. Т. 1, № 49 . С. 110-113.

56. Зайцева Е.Л., Токмакова А.Ю. Роль факторов роста и цитокинов в репаративных процессах в мягких тканях у больных сахарным диабетом. *Сахарный диабет*. 2014. Т. 17. №1. С. 57-62.

57. Ефимов Е.В., Хорошкевич А.В. Особенности раневого процесса на фоне сахарного диабета. *Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. М.Б.Костюченка*. 2015. Т. 2, № 3. С. 30-35.

58. Ferguson MW, Herrick SE, Spencer MJ, et al. The histology of diabetic foot ulcers. *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association*. 1996. Vol. 13, № 1. P. S30- S 33.

59. Mori R, Shaw TJ, Martin P. Molecular mechanisms linking wound inflammation and fibrosis: knockdown of osteopontin leads to rapid repair and reduced scarring. *J Exp Med*. 2008. Vol. 205. № 1. P. 43-51.

60. Abreu B.J., de Brito Vieira W.H. Metalloproteinase Changes in Diabetes. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2016. Vol. 920. P. 185-190.

61. Kowluru R.A., Shan Y., Mishra M. Dynamic DNA methylation of matrix metalloproteinase-9 in the development of diabetic retinopathy. *Laboratory Investigation*. 2016. Vol. 96(10). P. 1040-1049.

62. Baltzis D., Eleftheriadou I., Veves A. Pathogenesis and treatment of impaired wound healing in diabetes mellitus: new insights. *Advances in Therapy*. 2014. Vol. 31(8). P. 817-836.

63. Смирнов А.В., Паньшин Н.Г., Слиецанс А.А., Ломкина Е.М. Роль NO-системы в морфогенезе заживления кожных ран при сахарном диабете. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2014. Т. 4. С. 10-13.

64. Abd-El-Aleem SA, Ferguson MW, Appleton I, et al. Expression of nitric oxide synthase isoforms and arginase in normal human skin and chronic venous leg ulcers. *The Journal of Pathology*. 2000. Vol. 91(4). P. 434-442.

65. International Diabetes Federation. Oral Health for People with Diabetes. URL: <https://www.idf.org/our-activities/advocacy-awareness/resources-and-tools/83:oral-health-for-people-with-diabetes.html>.



66. Пушенко А.И. Стоматологические проявления сахарного диабета в полости рта. *Вопросы экспериментальной и клинической стоматологии. Сб. научных трудов.* Харьков. 2004. Вып. 8. С. 37-39.
67. Ткаченко П.І. Стан органів порожнини рота і фізико-хімічних властивостей ротової рідини у хворих на цукровий діабет типу 2. *Український стоматологічний альманах.* 2012. № 1. С. 23-27.
68. Вырмаскин С.И., Федорина Т.А., Трунин Д.А., Кириллова В.П. Морфологическая характеристика тканей пародонта у больных сахарным диабетом после хирургического лечения с использованием эрбиевого лазера. *Известия Самарского научного центра Российской Академии Наук.* 2015. Т.17. № 2 (2). С. 283-287.
69. Якимець М.М. Оцінка пародонта, слинних залоз, слизової оболонки порожнини рота у хворих на цукровий діабет. *Вісник наукових досліджень.* 2008. № 1. С. 62-64.
70. Kocher T., König J., Borgnakke W.S., Pink C., Meisel P. Periodontal complications of hyperglycemia/diabetes mellitus: Epidemiologic complexity and clinical challenge. *Periodontology 2000.* 2018. Vol. 78(1). P. 59-97.
71. Penmetsa G.S., Baddam S., Manyam R., Dwarakanath C.D. Comparison of the number of gingival blood vessels between type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis patients: An immunohistological study. *Journal of Indian Society of Periodontology.* 2015. Vol. 19(2). P. 164-168.
72. Maia L.G., Alves A.V., Bastos T.S. Histological analysis of the periodontal ligament and alveolar bone during dental movement in diabetic rats subjected to low-level laser therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology.* 2014. Vol. 5(135). P. 65-74.
73. Gyurkovics M., Nagy I., Bodor C. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor Has a Regulatory Role in Gingival Venues in Experimental Diabetes. *Journal of Periodontology.* 2016. Vol. 87(3). P. 27-34.

74. Aspriello S.D., Zizzi A., Lucarini G. Vascular endothelial growth factor and microvessel density in periodontitis patients with and without diabetes. *Journal of Periodontology*. 2009. Vol. 80(11). P. 1783-1789.

75. Rettori E., De Laurentiis A., Dees W.L. Host neuro- immuno-endocrine responses in periodontal disease. *Current Pharmaceutical Design*. 2014. Vol. 20(29). P. 4749-4759.

76. Anil S. Immunoglobulin concentration in gingival tissue of type 2 diabetic patients with periodontitis. *Indian Journal of Dental Research*. 2006. Vol. 17(4). P. 151-154.

77. Takahashi K., Nishimura F., Kurihara M., Iwamoto Y. Subgingival microflora and antibody responses against periodontal bacteria of young Japanese patients with type 1 diabetes mellitus. *Journal of International Academy of Periodontology*. 2001. Vol. 3(4). P. 104-111.

78. Еловицова Т.М. Изменение пародонта у больных инсулинозависимым сахарным диабетом: клинико-экспериментальные исследования: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Пермь. 1989. С. 16.

79. Lalla E., Papapanou P.N. Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. *Nature Reviews. Endocrinology*. 2011. Vol. 7(12). P. 738-748.

80. Wu Y.Y., Xiao E., Graves D.T. Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease. *International Journal of Oral Science*. 2015. Vol. 7(2). P. 63-72.

81. Григорян К.Р., Григорян О.Р., Никонова Т.В., Горельшеа В.А., Барер Г.М. Влияние нарушения костного метаболизма на состояние тканей пародонта у мужчин репродуктивного возраста с сахарным диабетом 1 типа и пути коррекции. *Медицинский научно-практический журнал «Остеопороз и остеопатии»*. 2006. № 3. С. 14-22.

82. Vernillo A.T. Dental considerations for the treatment of patients with diabetes mellitus. *Journal of the American Dental Association*. 2003. Vol. 134. P. 24-33.

83. Marigo L. Diabetes mellitus: biochemical, histological and microbiological aspects in periodontal disease. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2011. Vol. 15. № 7. P. 751-758.

84. Lima S.M., Grisi D.C., Kogawa E.M. Diabetes mellitus and inflammatory pulpal and periapical disease: a review. *International Endodontic Journal*. 2013. Vol. 46 (8). P. 700-709.

85. Perrino M. A. Diabetes and periodontal disease: an example of an oral/systemic relationship. *NY State Dental Journal*. 2007. Vol. 73. № 5. P. 38-41.

86. Жижина Н.А. Изменение минерального и белкового обмена в зубах и челюстях при экспериментальном аллоксановом диабете. *Стоматология*. 1966. Т. 45. №2. С. 14-18.

87. Зейналова Г. Состояние тканей пародонта у детей, больных сахарным диабетом. *Материалы II Междунар. конгресса стоматологов*. Тбилиси. 2000. С. 305-306.

88. Воложин А.И., Елизарова В.М., Моисеенко О.О., Бадретдинова Г.Р. Интенсивность кариеса зубов и патология пародонта у детей с инсулинзависимым сахарным диабетом. *Детская стоматология*. 2000. № 1-2. С. 44-48.

89. Kurdee Z., King R., Ajjan R.A. The fibrin network in diabetes: its role in thrombosis risk. *Polskie archiwum medycyny wewnetrznej*. 2014. Vol. 124(11). P. 617-627.

90. Lopes D.A., Moraes S.A., Freitas I.C. Control of diabetes and fibrinogen levels as well as improvement in health care might delay low cognitive performance in societies aging progressively. *Arq Neuropsiquiatr*. 2015. Vol. 73 (1). P. 22-29.

91. Hess K. The vulnerable blood. Coagulation and clot structure in diabetes mellitus. *Hamostaseologie*. 2015. Vol. 35 (1). P. 25-33.

92. Maatman B.T., Schmeisser G., Kreutz R.P. Fibrin Clot Strength in Patients with Diabetes Mellitus Measured by Thrombelastography. *Journal of Diabetes Research*. 2018.

93. Остромецкая, Т.К., Радюк К.А. Клинико-рентгенологические проявления поражений пародонта у детей, больных сахарным диабетом. *Стоматология*. 1984. № 1. С. 79-80.

94. Балашов, А.Н., Хазанова В.В., Дмитриева Н.А. Микробный статус пародонтального кармана. *Стоматология*. 1992. № 1. С. 22-24.

95. Шандыба С.И. Клинико-рентгенографическая характеристика состояния пародонтальных карманов у больных генерализованным пародонтитом, ассоциированным сахарным диабетом 2 типа. *Актуальні проблеми стоматології, щелепно-лицевої хірургії, пластичної та реконструктивної хірургії голови та шиї*. Полтава. 2014. С. 73-74.

96. Jawed M., Khan R., Shahid S., Azhar A. Protective effects of salivary factors in dental caries in diabetic patients of Pakistan. *Experimental Diabetes Research*. 2012. Vol. 24. P. 1-5.

97. Xin X, Junzhi H, Xuedong Z. Oral microbiota: a promising predictor of human oral and systemic diseases. *West China Journal of Stomatology*. 2015. Vol. 33(6). P. 555-560.

98. Long J., Cai Q., Steinwandel M. Association of oral microbiome with type 2 diabetes risk. *Journal of Periodontal Research*. 2017. Vol. 52 (3). P. 636-643.

99. Babaev E.A., Balmasova I.P., Mkrtumyan A.M., Kostryukova S.N., Vakhitova E.S., Il'ina E.N., Tsarev V.N., Gabibov A.G., Arutyunov S.D. Metagenomic Analysis of Gingival Sulcus Microbiota and Pathogenesis of Periodontitis Associated with Type 2 Diabetes Mellitus. *Bull Exp Biol Med*. 2017. Vol. 163 (6). P. 718-721.

100. Blasco-Baque V., Garidou L., Pomié C., Escoula Q., Loubieres P. Periodontitis induced by *Porphyromonas gingivalis* RDives periodontal microbiota dysbiosis and insulin resistance via an impaired adaptive immune response. *Gut*. 2017. Vol. 66 (5). P. 872-885.

101. Kumar M., Mishra L., Mohanty R., Nayak R. Diabetes and gum disease: the diabolic duo. *Diabetes Metab SynRD*. 2014. Vol. 8 (4). P. 255-258.

102. Akazawa H. Periodontitis and Diabetes Mellitus: Be true to your teeth. *International Heart Journal*. 2018. Vol. 59 (4). P. 680-682.

103. Gurav A., Jadhav V. Periodontitis and risk of diabetes mellitus. *Journal of Diabetes*. 2011. Vol. 3 (1). P. 21-28.
104. Seshima F., Nishina M., Namba T., Saito A. Periodontal Regenerative Therapy in Patient with Chronic Periodontitis and Type 2 Diabetes Mellitus: A Case Report. *Bull Tokyo Dent Coll*. 2016. Vol. 57 (2). P. 97-104.
105. Mealey B.L., Rose L.F. Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2008. Vol. 15 (2). P. 135-141.
106. Duque C., João M.F., Camargo G.A., Teixeira G.S., Machado T.S., Azevedo R.S., Mariano F.S., Colombo N.H., Vizoto N.L., Mattos-Graner R.O. Microbiological, lipid and immunological profiles in chilRDen with gingivitis and type 1 diabetes mellitus. *Journal Appl Oral Sci*. 2017. Vol. 25 (2). P. 217-226.
107. Oh T.J., Eber R., Wang H.L. Periodontal diseases in the child and adolescent. *Journal of Clinical Periodontology*. 2002. Vol. 29 (5). P. 400-410.
108. Mauri-Obradors E., Estrugo-Devesa A., Jané-Salas E., Viñas M., López-López J. Oral manifestations of Diabetes Mellitus. A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2017. Vol. 22 (5). P. 586-594.
109. Novotna M., Podzimek S., Broukal Z., Lencova E., Duskova J. Periodontal Diseases and Dental Caries in ChilRDen with Type 1 Diabetes Mellitus. *Mediators Inflamm*. 2015.
110. Machado D., Coelho A., Paula A., Caramelo F., Carrilho F., Barros L., Batista C., Melo M., Ferreira M.M., Carrilho E. Prevalence of Dental Caries in Patients with Type 1 Diabetes Mellitus Treated with Multiple Insulin Injections and that of Individuals without Diabetes. *Acta Med Port*. 2017. Vol. 30 (5). P. 402-408.
111. Latti B.R., Kalburge J.V., Birajdar S.B., Latti R.G. Evaluation of relationship between dental caries, diabetes mellitus and oral microbiota in diabetics. *Journal of Oral Maxillofacial Pathology*. 2018. Vol. 22 (2). P. 282.
112. Rahimi-Nedjat R.K., Sagheb K., Pabst A., Foersch M., Jacobs C., Vollandt L., Al-Nawas B., Walter C. Diabetes and hyperglycemia as risk factors for postoperative outcome in maxillofacial surgery. *Journal of Surgical Research*. 2017. Vol. 217. P. 170-176.

113. Llambés F. Arias-Herrera S., Caffesse R. Relationship between diabetes and periodontal infection. *World Journal of Diabetes*. 2015. Vol. 6. № 7. P. 927–935.
114. Schallhorn R. A. Understanding the Inter-relationship between Periodontitis and Diabetes: Current Evidence and Clinical Implications. *Compend. Contin. Educ. Dent*. 2016. Vol. 37. № 6. P. 368– 370.
115. Numabe Y. The relationship between diabetes and periodontal disease. *Nihon Rinsho*. 2016. Vol. 74, suppl. 2. P. 477– 481.
116. Hong M. Kim H. Y., Seok H. Prevalence and risk factors of periodontitis among adults with or without diabetes mellitus. *Korean J. Intern. Med*. 2016. Vol. 31. № 5. P. 910– 919.
117. Mealey B.L., Oates T.W. Diabetes mellitus and periodontal diseases. American Academy of Periodontology. *Journal of Periodontology*. 2006. Vol. 77 (8). P. 1289-1303.
118. Silva M.F., Barbosa K.G., Pereira J.V., Bento P.M., Godoy G.P., Gomes D.Q. Prevalence of oral mucosal lesions among patients with diabetes mellitus types 1 and 2. *An Bras Dermatol*. 2015. Vol. 90 (1). P. 49-53.
119. Chi A.C., Neville B.W., Krayner J.W., Gonsalves W.C. Oral manifestations of systemic disease. *Am Fam Physician*. 2010. Vol. 82 (11). P. 1381-1388.
120. Guggenheimer J., Moore P.A., Rossie K., Myers D., Mongelluzzo M.B., Block H.M., Weyant R., Orchard T. Insulin-dependent diabetes mellitus and oral soft tissue pathologies. I. Prevalence and characteristics of non-candidal lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2000. Vol. 89 (5). P. 563-569.
121. Dorocka-Bobkowska B., Zozulinska-Ziolkiewicz D., Wierusz-Wysocka B., Hedzelek W., Szumala-Kakol A., Budtz-Jørgensen E. Candida-associated denture stomatitis in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010. Vol. 90 (1). P. 81-86.
122. Saini R., Al-Maweri S.A., Saini D., Ismail N.M., Ismail A.R. Oral mucosal lesions in non oral habit diabetic patients and association of diabetes mellitus with oral precancerous lesions. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010. Vol. 89 (3). P. 320-326.

123. Akpan A., Morgan R. Oral candidiasis. *Postgrad Med J.* 2002. Vol. 78 (922). P. 455-459.
124. Goyal L., Gupta N.D., Gupta N. Grinspan synRDome with periodontitis: Coincidence or correlation? *Journal Indian Soc Periodontol.* 2018. Vol. 22 (3). P. 263-265.
125. Пришляк В. Є., Пасько О. О., Пасічник М. А. Індексна оцінка гігієнічного стану порожнини рота у дітей хворих на цукровий діабет. *Вісник проблем біології і медицини.* 2014. Вип. 4. Том. 2 (114). С. 328-331.
126. Смоляр Н.І. Пришляк В.Є. Патогенетичні аспекти виникнення і поширення цукрового діабету та його ускладнення в дітей. *Український стоматологічний альманах.* 2013. № 4. С. 79-81.
127. Arul A. Sri Kennath Evaluation of correlation between Salivary pH and prevalence of Dental Caries in subjects with and without Diabetes Mellitus. *Journal Recent Sciences.* 2013. Vol. 3. P. 224-226.
128. Karjalainen K.M., Knuuttila M.L., Käär M.L. Relationship between caries and level of metabolic balance in chilRDen and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *Caries Research.* 1997. Vol. 31 (1). P. 13-18.
129. Воєвода О.О. Особливості мінерального обміну у дітей в періоди активного росту. *Науковий вісник Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.* 2007. С. 51-52.
130. Bajaj S., Prasad S., Gupta A., Singh V.B. Oral manifestations in type-2 diabetes and related complications. *Indian Journal of Endocrinol Metab.* 2012. Vol. 16 (5). P. 777-779.
131. Javed F., Al-Kheraif A.A., Kellesarian S.V., Vohra F., Romanos G.E. Oral Candida carriage and species prevalence in denture stomatitis patients with and without diabetes. *J. Biol Regul Homeost Agents.* 2017. Vol. 31 (2). P. 343-346.
132. Geerlings S.E., Hoepelman A.I. Immune dysfunction in patients with diabetes mellitus. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1999. Vol. 26 (3-4). P. 259-265.

133. Івченко А.В., Лузін В.І., Чистолінова Л.І., Єршомін А.В., Рикова Ю.О., Скоробогатов А.М. Хімічний склад кісткової тканини, що формується в місці дефекту на тлі стрептозотоцинового діабету. *Травма*. 2012. Т. 13. № 4. С. 92-94.
134. American Academy of Periodontology. Guidelines for the management of patients with periodontal diseases. *J. Periodontol.* 2006. Vol. 77. P. 1607-1611.
135. Lamster I. B., Lalla E., Borgnakke W. S. The relationship between oral health and diabetes mellitus. *J. Am. Dent. Assoc.* 2008. Vol. 139. suppl. 5. P. 19– 24.
136. Mirescu Ș.C., Păiș R., Stănoiu B.P., Di Natale L., Șovrea A.S. The value of exfoliative cytology in the diagnostic of oral mucosa changes in diabetes mellitus. *Rom J Morphol Embryol.* 2016. Vol. 57 (4). P. 1313-1322.
137. Roberts A.C., Porter K.E. Cellular and molecular mechanisms of endothelial dysfunction in diabetes. *Diab Vasc Dis Res.* 2013. Vol. 10 (6). P. 472-482.
138. Lecka-Czernik B. Diabetes, bone and glucose-lowering agents: basic biology. *Diabetologia.* 2017. Vol. 60 (7). P. 1163-1169.
139. Motyl K.J., Guntur A.R., Carvalho A.L., Rosen C.J. Energy Metabolism of Bone. *Toxicol Pathol.* 2017. Vol. 45 (7). P. 887-893.
140. Шевкунова Н. А. Применение метода полимеразной цепной реакции для диагностики пародонтопатогенных микроорганизмов при ортопедическом лечении больных сахарным диабетом 2 типа съёмными акриловыми протезами. *Пробл. соврем. науки и образования.* 2016. № 2. С. 172–175.
141. Furman B.L. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Curr Protoc Pharmacol.* 2015. Vol. 70, Issue 1. P. 5.47.1-5.47.20
142. Колесник Ю.М., Абрамов А.В. Нейроэндокринные и иммунные механизмы развития сахарного диабета. *Патологія.* 2005. Т. 2. №3. С. 20-23.
143. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia.* 2008. Vol. 51 (2). P. 216-226.
144. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res.* 2001. Vol. 50 (6). P. 537-546.



145. Szkudelski T. Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2012. Vol. 237 (5). P. 481-490.
146. E.D. Costa, B.A. Rezende, S.F. Cortes et al. Neuronal Nitric Oxide Synthase in Vascular Physiology and Diseases. *Front Physiol*. 2016. Vol. 7. P. 206.
147. Золотов Ю А., Иванов В. М., Амелин В. Г. Химические тест-методы анализа. *Едиториал УРСС*. 2002. С. 197-198.
148. Xue L., Su L., Zhao L., Li J., Du Y., Yu X. Cyclophilin a increases CD68+ cell infiltration in rat experimental periodontitis. *J Mol Histol*. 2018. Vol. 49 (2). P. 157-164.
149. Sun X., Kaufman P.D. Ki-67: more than a proliferation marker. *Chromosoma*. 2018. Vol. 127 (2). P. 175-186.
150. Chistiakov D.A., Killingsworth M.C., Myasoedova V., Orekhov A.N., Bobryshev Y.V. CD68/macrosialin: not just a histochemical marker. *Lab Invest*. 2017. Vol. 97 (1). P. 4-13.
151. Iglesias-Linares A., Hartsfield J.K. Cellular and Molecular Pathways Leading to External Root Resorption. *J Dent Res*. 2017. Vol. 96 (2). P. 145-152.
152. Penubolu Lakshmi Preethi, Suresh Rango Rao, Balaji Thodur Madapusi, Malathi Narasimhan. Immunolocalization of Ki-67 in different periodontal conditions. *Indian Soc Periodontol*. 2014. Vol. 18 (2). P. 161–165.
153. Зайцев В, Лифляндский В. Прикладная медицинская статистика. Учебно-методическое пособие: *Фолиант*. 2003. 429 с.
154. Абрамов А.В., Ганчев К.С. Зависимость постэкстракционных осложнений от степени тяжести экспериментального сахарного диабета. *Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2014. Т. 14. № 3 (47). С. 180-184.
155. Ганчев К.С. Цукровий діабет, як ключовий фактор постекстракційних ускладнень в стоматології. *Актуальні проблеми сучасної патоморфології та патофізіології*. 2015. С. 36-37.

156. Ганчев К.С. Поздние постэкстракционные осложнения у крыс при экспериментальном сахарном диабете. *Актуальные проблемы современной медицины*. Самарканд. 2016. С. 315.
157. Абрамов А.В., Ганчев К.С., Василенко Г.В., Ковалев Н.М. Экспериментальный сахарный диабет и постэкстракционные осложнения в стоматологии. *Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції : матеріали VII Національного з'їзду патофізіологів України*. Харків. 2016. С. 26.
158. Абрамов А.В., Ганчев К.С., Вородєєва Ю.І. Залежність постекстракційних ускладнень при експериментальному цукровому діабеті від ступеню важкості та терміну перебігу патології. *Клінічна та експериментальна патологія*. Т. 16. № 3 (61), ч. 2. С. 8.
159. Хміль Е.В., Ляшенко Л.И., Янко Н.В., Хміль Д.А., Каськова Л.Ф. Alteration mechanisms of oxidative stress at periodontal tissues of rats in a simulated periodontitis and elaborate methods of their correction. *Wiad Lek*. 2016. Vol. 69 (3 pt 2). P. 521-523.
160. Nilforoushan D, Manolson MF. Expression of nitric oxide synthases in orthodontic tooth movement. *Angle Orthod*. 2009. Vol. 79. № 3. P. 502-508.
161. Radziwon-Balicka A. et al. Differential eNOS-signalling by platelet subpopulations regulates adhesion and aggregation. *Cardiovasc Res*. 2017. Vol. 113. № 14. P. 1719-1731.
162. Berdeli A, Gürkan A, Emingil G, Atilla G, Köse T. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp gene polymorphism in periodontal diseases. *J Periodontol*. 2006. Vol. 77. № 8. P. 1348-1354.
163. Wang J., Kalhor A., Lu S., Crawford R., Ni J.D., Xiao Y. iNOS expression and osteocyte apoptosis in idiopathic, non-traumatic osteonecrosis. *Acta Orthop*. 2015. Vol. 86 (1). P. 134-141.
164. Мойбенко О.О., Юзьков М.Я., Коцюрuba А.В. та ін. Зміни системи оксиду азоту при гострій ішемії та реперфузії міокарда. *Фізіологічний журнал*. 2000. Т. 46, № 6. С. 3-11.

165. Boger R.H., Bode-Boger S.M., Thiele W. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation*. 1997. Vol. 95. P. 2068-2074.

166. Xu X.M., Liu W., Cao Z.H., Liu M.X. Effects of ZEB1 on regulating osteosarcoma cells via NF- $\kappa$ B/iNOS. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017. Vol. 21 (6). P. 1184-1190.

167. Goligorsky M.S. A pivotal role of nitric oxide in endothelial cell dysfunction. *Acta Physiol. Scand*. 2000. Vol. 168. № 1. P. 33-40.

168. Han Y., Wang H., Shao Z. Monocyte-Derived Macrophages Are Impaired in Myelodysplastic Syndrome. *Journal of Immunology Research*. 2016. Volume 2016. Article ID 5479013. 7 pages.

169. Сомова Л.М., Плехова Н.Г. Оксид азота как медиатор воспаления. *Вестник ДВО РАН*. 2006. №6. С. 70-80.

170. Assmann T.S., Brondani L.A., Bouças A.P., Rheinheimer J., de Souza B.M., Canani L.H., Bauer A.C., Crispim D. Nitric oxide levels in patients with diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Nitric Oxide*. 2016. Vol. 30 (61). P. 1-9.

171. Ганчев К.С., Абрамов А.В., Грекова Т.А. Індуцибельна синтаза монооксиду азоту – її роль у формуванні пост екстракційних ускладнень при експериментальному цукровому діабеті. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2017. Т. 17. вип. 4 (60). ч. 2. С. 29-32.

172. Абрамов А.В., Ганчев К.С. Порухення експресії конститутивних ізоформ синтаз монооксиду азоту, як патогенетичний фактор ускладнень репарації після екстракції зуба на фоні експериментального цукрового діабету. *Патологія*. 2018. Т.15. № 2 (43). С. 148-152.

173. Ганчев К.С. Внесок порушення балансу конститутивних ізоформ NOS у формування ускладнень після екстракції зуба на фоні експериментального цукрового діабету. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації : матеріали Всеукр. наук.-практ. конференції до 50-річчя заснування ЗДМУ*. 2018. С. 3.

174. Ганчев К.С., Абрамов А.В. Баланс ізоформ NOS у пародонті щурів з експериментальним цукровим діабетом. *Матеріали VII пленуму укр. наук. товариства патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячених 110-річчю з дня народження чл.-кор. АМН України проф. М.Н. Зайка*. Полтава. 2018. С. 18-19.

175. Björnfort Holmström S. Gingival Tissue Inflammation Promotes Increased Matrix Metalloproteinase-12 Production by CD200 Rlow Monocyte-Derived Cells in Periodontitis. *Journal of Immunology*. 2017. Vol. 199 (12). P. 4023-4035.

176. Лохонина А.В. Морфофункціональна характеристика макрофагов ембріонального и моноцитарного походження. *Гени & Клетки*. 2018. Т. 13. №2. С. 56-62.

177. Абрамов А.В., Ганчев К.С. Кількісний аналіз проліферативної активності тканин пародонту щурів після екстракції зуба на фоні експериментального цукрового діабету. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2019. Т 18. №1 (67). С. 10-15.

178. Ганчев К.С. Характеристика стану вродженої ланки місцевого імунітету тканин пародонту щурів після екстракції зуба на фоні цукрового діабету за показниками експресії CD68. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2019. Т.19. вип. 1 (65). С. 52-55.

179. Абрамов А.В., Ганчев К.С. Патогенетичні особливості проліферативної активності тканин пародонту щурів із експериментальним цукровим діабетом після екстракції зуба. *Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології (Вісімнадцяті Данилевські читання) : матеріали щорічної наук.-практ. конф. з міжнар. участю*. Харків. 2019. С.18.

180. Ганчев К.С. Характеристика проліферативної активності тканин пародонту щурів після екстракції зуба на фоні експериментального цукрового діабету. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до сучасної медицини і фармації* : матеріали Всеук. наук.-практ. конф. студ. та молодих вчених з між нар. участю(м. Харків, 15 трав. 2019 р.). Харків : ХНМУ та НФУ. 2019. С. 26.

181. Ганчев К.С., Абрамов А.В. Динаміка проліферативної активності тканин пародонту щурів після екстракції зуба : матеріали 20-го з'їзду Укр. фізіологічного

тов.-ва з між нар. участю, присвяченого 95-річчю від дня народження академіка П.Г.Костюка. Фізіологічний журнал м. Київ, 27-30 трав. 2019 р.). Київ : НАН України, Українське фізіологічне товариство ім. П.Г.Костюка, Наукова Рада Президії НАН України з проблеми «Фізіологія людини і тварин» та Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. 2019. *Фізіологічний журнал*. Т.65. № 2. С. 108.

182. Cullingham P., Saksena A., Pemberton M.N. Patient safety: reducing the risk of wrong tooth extraction. *Br Dent J*. 2017. Vol. 222 (10). P. 759-763.

183. Rai S., Pradhan R. Tooth in the line of fracture: its prognosis and its effects on healing. *Indian J Dent Res*. 2011. Vol. 22 (3). P. 495-496.

184. Sun J, Du J, Feng W, Lu B, Liu H, Guo J, Amizuka N, Li M. Histological evidence that metformin reverses the adverse effects of diabetes on orthodontic tooth movement in rats. *J Mol Histol*. 2017. Vol. 48 (2) P. 73-81.

185. Goss A., Sambrook P. Diabetes, Wound Healing And Complications: Authors' Reply. *Australian Dental Journal*. 2013. Vol. 58 (4). P. 536-537.

186. Mealey B., Oates T. Diabetes Mellitus and Periodontal Diseases. *Journal of Periodontology*. 2006. Vol. 77 (8). P. 1289-1303.

187. Зоман Х. А. Сахарный диабет и заболевания пародонта – изучая взаимосвязь. *Лечащий врач*. 2014. № 3. С. 6-8.

188. Гречишкин А.К., Свешников А.А. Минеральная плотность костной ткани у больных с диабетическими поражениями нижних конечностей (обзор литературы). *Гений ортопедии*. 2009. № 1. С. 121-127.

189. Sun, J., Du, J., Feng, W., Lu, B., Liu, H., Guo, J., Li, M. Histological evidence that metformin reverses the adverse effects of diabetes on orthodontic tooth movement in rats. *Journal of molecular histology*. 2017. Vol. 48 (2). P. 73-81.

190. Abramov A.V., Ganchev K. S., Kadzharian E. V. Specific aspects of the radiographic morphometric and densitometric characteristics of mandible of the rats with experimental diabetes mellitus after tooth extraction. *Патологія*. 2019. Т. 16. №1 (45). С. 87-93.

191. de Molon R.S., de Avila E.D., Cirelli J.A. Host responses induced by different animal models of periodontal disease: a literature review. *Journal Investig Clin Dent*. 2013. Vol. 4. P. 211-218.

## ДОДАТОК А1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з науково-педагогічної роботи  
Тернопільського державного медичного  
університету МОЗ України  
професор Шульгай А.Г.

« 24 » \_\_\_\_\_ 2019 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції:** патогенетичні особливості стану системи монооксиду азоту тканин пародонту при експериментальному цукровому діабеті та її роль у формуванні постекстракційних укладень.
2. **Установа-розробник, автор:** Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології (69074, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26), проф. Абрамов А.В., асистент Ганчев К.С.
3. **Джерела інформації:**  
Індуцибельна синтаза монооксиду азоту – її роль у формуванні постекстракційних укладень при експериментальному цукровому діабеті» / К.С. Ганчев, А.В. Абрамов, Т.А. Грекова // *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2017. Т. 17, вип. 4 (60), ч. 2. С. 29-32.
4. **Де і коли впроваджено:** кафедра загальної патофізіології Тернопільського державного медичного університету МОЗ України, вересень-грудень 2018 року.
5. **Результати застосування методу:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри загальної патофізіології Тернопільського державного медичного університету МОЗ України на практичних заняттях та лекціях з тем: «Запалення. Альтерація, судинні реакції і ексудация. Вивчення механізмів ексудатії в експерименті», «Фагоцитоз і проліферація при запаленні» та «Патологія вуглеводного обміну. Цукровий діабет» (обговорено на засіданні кафедри 18.02.2019 р., протокол № 2).
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо ролі системи монооксиду азоту у формуванні ускладнень при цукровому діабеті на фоні хірургічних втручань, що сприяє підвищенню якості їх наукової та медичної освіти.
7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження: професор кафедри патофізіології, д.мед.н., професор Хара Марія Романівна.

Завідувач кафедри загальної патофізіології  
Тернопільського державного медичного  
університету МОЗ України, д.мед.наук.,  
професор

О.В. Денефіль

## ДОДАТОК А2

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**

Т.в.о. проректора з науково-педагогічної  
роботи Одеського національного  
медичного університету МОЗ України  
д.мед.н., професор

Марічерда В.Г.


« 25 » \_\_\_\_\_ 2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** патогенез порушення механізмів репарації пародонту після екстракції зубу за умов експериментального цукрового діабету
2. **Установа-розробник, автор:** Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології, професор Абрамов А.В., асистент кафедри пропедевтичної та хірургічної стоматології Ганчев К.С.
3. **Джерела інформації:**
  1. Абрамов А.В. Зависимость постэкстракционных осложнений от степени тяжести экспериментального сахарного диабета /А.В. Абрамов, К.С. Ганчев // Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2014. - Т. 14, № 3 (47). - С. 180-184.
  2. Індуцибельна синтаза монооксиду азоту – її роль у формуванні пост екстракційних ускладнень при експериментальному цукровому діабеті / К.С. Ганчев, А.В. Абрамов, Т.А. Грекова // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2017. – Т. 17, вип. 4 (60), ч. 2. – С. 29-32.
4. **Впроваджено:** патогенетичні особливості репаративних процесів на фоні цукрового діабету
5. **Термін впровадження:** 23.01.2018 - 12.04.2018 рік
6. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра загальної та клінічної патофізіології Одеського національного медичного університету МОЗ України.
7. **Форма впровадження:** в навчальний процес – в матеріали лекцій і практичних занять стоматологічного факультету, а також в наукову роботу кафедри.
8. **Зауваження та пропозиції:** Не вносилися. Обговорено та затверджено на методичному засіданні кафедри загальної та клінічної патофізіології, протокол № 10 від 23 травня 2018 р.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедрою загальної та клінічної  
патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського  
національного медичного університету МОЗ України  
д.мед.н., професор

  
Вастьянов Р.С.



## ДОДАТОК АЗ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи  
Української медичної стоматологічної академії  
професор Дворник В.М.

« 15 » \_\_\_\_\_ 2019 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**



1. **Найменування пропозиції:** патогенетичні особливості стану системи монооксиду азоту тканин пародонту при експериментальному цукровому діабеті та її роль у формуванні пост екстракційних ускладнень.

2. **Установа-розробник, автор:** Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології (69074, м. Запоріжжя, пр.. Маяковського, 26), проф. Абрамов А.В., асистент Ганчев К.С.

3. **Джерела інформації:**

Ганчев К.С., Абрамов А.В., Грекова Т.А. Індуцибельна синтаза монооксиду азоту – її роль у формуванні пост екстракційних ускладнень при експериментальному цукровому діабеті». *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2017. Т. 17, вип.. 4 (60), ч. 2. С. 29-32.

4. **Де і коли впроваджено:** кафедра патофізіології Української медичної стоматологічної академії МОЗ України, квітень-грудень 2018 року.

5. **Результати застосування методу:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри патологічної фізіології на практичних заняттях та лекціях з тем: «Запалення» та «Патологія вуглеводного обміну. Цукровий діабет». Обговорено на засіданні кафедри 21.03.2019 р., протокол №8.

6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо ролі системи монооксиду азоту у формуванні ускладнень при цукровому діабеті на фоні хірургічних втручань, що сприяє підвищенню якості їх наукової та медичної освіти.

7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:  
Завідувач кафедри патофізіології  
Української медичної стоматологічної академії  
МОЗ України, професор

В. О. Костенко

## ДОДАТОК А4



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Запорізького державного медичного  
університету МОЗ України  
професор Візір В.А.

» 03 2019 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції:** патогенетичні особливості стану системи монооксиду азоту тканин пародонту при експериментальному цукровому діабеті та її роль у формуванні постекстракційних ускладнень.
2. **Установа-розробник, автор:** Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології (69074, м. Запоріжжя, пр.. Маяковського, 26), проф. Абрамов А.В., асистент Ганчев К.С.
3. **Джерела інформації:**  
Індуцибельна синтаза монооксиду азоту – її роль у формуванні постекстракційних ускладнень при експериментальному цукровому діабеті» / К.С. Ганчев, А.В. Абрамов, Т.А. Грекова // *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2017. Т. 17, вип.. 4 (60), ч. 2. С. 29-32.
4. **Де і коли введено:** кафедра патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету МОЗ України, вересень-грудень 2018 року.
5. **Результати застосування методу:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету МОЗ України на практичних заняттях та лекціях з тем: «Запалення. Альтерація, судинні реакції і ексудація. Вивчення механізмів ексудації в експерименті», «Фагоцитоз і проліферація при запаленні» та «Патологія вуглеводного обміну. Цукровий діабет» (обговорено на засіданні кафедри від 12.03.2019 р., протокол № 9).
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо ролі системи монооксиду азоту у формуванні ускладнень при цукровому діабеті на фоні хірургічних втручань, що сприяє підвищенню якості їх наукової та медичної освіти.
7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження зав. кафедри патофізіології, д.мед.н., професор Ганчева Ольга Вікторівна.

Завідувач кафедри патофізіології  
Запорізького державного медичного  
університету МОЗ України,  
професор

О.В. Ганчева

## ДОДАТОК А5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Харківського національного  
медичного університету МОЗ України  
д. мед. н., професор В.Д. Марковський



2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів наукових досліджень –

1. **Найменування пропозиції:** патогенетичні особливості стану системи монооксиду азоту тканин пародонту при експериментальному цукровому діабеті та її роль у формуванні постекстракційних ускладнень.
2. **Установа-розробник, автор:** Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології (69074, м. Запоріжжя, пр.. Маяковського, 26), проф. Абрамов А.В., асистент Ганчев К.С.
3. **Джерела інформації:**  
Індуцибельна синтаза монооксиду азоту – її роль у формуванні постекстракційних ускладнень при експериментальному цукровому діабеті / К.С. Ганчев, А.В. Абрамов, Т.А. Грекова // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2017. – Т. 17, вип.. 4 (60), ч. 2. – С. 29-32.
4. **Де і коли введено:** кафедра патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету МОЗ України, квітень-жовтень 2018 року.
5. **Результати застосування методу:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри патологічної фізіології на практичних заняттях та лекціях з тем: «Запалення. Альтерація, судинні реакції і ексудація. Вивчення механізмів ексудації в експерименті», «Фагоцитоз і проліферація при запаленні» та «Патологія вуглеводного обміну. Цукровий діабет» (обговорено на засіданні кафедри 22.11.2018 р., протокол № 18).
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо ролі системи монооксиду азоту у формуванні ускладнень при цукровому діабеті на фоні хірургічних втручань, що сприяє підвищенню якості їх наукової та медичної освіти.
7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження: завідувач кафедрою патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна, д. мед. н., професор Ніколаєва Ольга Вікторівна.

Завідувач кафедри патологічної фізіології імені Д.О. Альперна  
Харківського національного медичного  
університету МОЗ України, професор

О. В. Ніколаєва

## ДОДАТОК А6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Дніпропетровської медичної академії МОЗ  
України  
професор Науменко Л. Ю.

« 21 » 02 2019 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Найменування пропозиції:** патогенетичні особливості стану системи монооксиду азоту тканин пародонту при експериментальному цукровому діабеті та її роль у формуванні пост екстракційних ускладнень.
- Установа-розробник, автор:** Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології (69074, м. Запоріжжя, пр.. Маяковського, 26), проф. Абрамов А.В., асистент Ганчев К.С.
- Джерела інформації:** Індуцибельна синтаза монооксиду азоту – її роль у формуванні пост екстракційних ускладнень при експериментальному цукровому діабеті» / К.С. Ганчев, А.В. Абрамов, Т.А. Грекова // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2017. – Т. 17, вип.. 4 (60), ч. 2. – С. 29-32.
- Де і коли впроваджено:** кафедра патологічної фізіології Дніпропетровської медичної академії МОЗ України, квітень-грудень 2018 року.
- Результати застосування методу:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри патологічної фізіології на практичних заняттях та лекціях з тем: «Запалення. Альтерація, судинні реакції і ексудація. Вивчення механізмів ексудації в експерименті», «Фагоцитоз і проліферація при запаленні» та «Патологія вуглеводного обміну. Цукровий діабет» (обговорено на засіданні кафедри 5 лютого 2019 р., протокол № 11).
- Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо ролі системи монооксиду азоту у формуванні ускладнень при цукровому діабеті на фоні хірургічних втручань, що сприяє підвищенню якості їх наукової та медичної освіти.

## Відповідальний за впровадження:

професор, д.мед.н.



Ю.В. Сілкина

завідувач кафедри патологічної фізіології  
Дніпропетровської медичної академії  
МОЗ України,  
професор



М.А. Довгаль

**ДОДАТОК Б**  
**НАУКОВІ ПРАЦІ, ОПУБЛІКОВАНІ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Абрамов А.В., Ганчев К.С. Зависимость постэкстракционных осложнений от степени тяжести экспериментального сахарного диабета. *Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2014. Т. 14, №3 (47). С. 180-184. (Дисертант виконав набір матеріалу, біохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).

2. Ганчев К.С., Абрамов А.В., Грекова Т.А. Индуцибельна синтаза монооксида азоту – її роль у формуванні пост екстракційних ускладнень при експериментальному цукровому діабеті». *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2017. Т. 17, вип. 4 (60), ч. 2. С. 29-32. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).

3. Абрамов А.В., Ганчев К.С. Порухення експресії конститутивних ізоформ синтаз монооксида азоту, як патогенетичний фактор ускладнень репарації після екстракції зуба на фоні експериментального цукрового діабету. *Патологія*. 2018. Т. 15, №2 (43). С. 148-152. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).

4. Абрамов А.В., Ганчев К.С. Кількісний аналіз проліферативної активності тканин пародонту щурів після екстракції зуба на фоні експериментального цукрового діабету. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2019. Т. 18, №1 (67). С. 10-15. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).

5. Abramov A.V., Hanchev K.S., Kadzharian Ye.V. Specific aspects of the radiographic morphometric and densitometric characteristics of mandible of the rats with experimental diabetes mellitus after tooth extraction. *Патологія*. 2019. Т. 16, №1 (45). С. 87-93. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).

6. Ганчев К.С. Характеристика стану вродженої ланки місцевого імунітету тканин пародонту щурів після екстракції зуба на фоні цукрового діабету за показниками експресії CD68. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2019. Т. 19, вип. 1 (65). С. 52-56.

7. Ганчев К.С. Цукровий діабет, як ключовий фактор постекстракційних ускладнень в стоматології. *Актуальні проблеми сучасної патоморфології та патофізіології* : зб. тез наук. робіт уч. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. уч., м. Запоріжжя, 28-29 трав. 2015 р. Запоріжжя : ЗДМУ, 2015. С. 36-37. *(Дисертант виконав моделювання діабету та видалення зубів щурам, виконав біохімічні дослідження та аналіз їх результатів)*.

8. Ганчев К.С. Поздние постэкстракционные осложнения у крыс при экспериментальном сахарном диабете. *Актуальные проблемы современной медицины* : сб. материалов междунар. 70-й научн.-практ. конф. студентов-медиков и молодых ученых, г. Самарканд, 27 мая 2016 г. Самарканд, 2016. С. 296.

9. Абрамов А.В., Ганчев К.С., Василенко Г.В., Ковалев Н.М. Экспериментальный сахарный диабет и постэкстракционные осложнения в стоматологии. *Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції* : матеріали VII Національного з'їзду патофізіологів України, м. Харків, 5-7 жовт. 2016 р. Харків, 2016. С. 26. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів)*.

10. Абрамов А.В., Ганчев К.С., Вородєєва Ю.І. Залежність постекстракційних ускладнень при експериментальному цукровому діабеті від ступеню важкості та терміну перебігу патології. *Фізіологія і патологія нейро-імуно-ендокринної регуляції* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Чернівці, 5-6 жовт. 2017 р. *Клінічна та експериментальна патологія*. Т. 16, № 3 (61), ч. 2. С. 8. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів)*.

11. Ганчев К.С. Внесок порушення балансу конститутивних ізоформ NOS у формування ускладнень після екстракції зуба на фоні експериментального цукрового діабету. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації* : матеріали

Всеукр. наук.-практ. конф. до 50-річчя заснування ЗДМУ, м. Запоріжжя, 30 трав. 2018 р. Запоріжжя : ЗДМУ, 2018. С. 3.

12. Ганчев К.С., Абрамов А.В. Баланс ізоформ NOS у пародонті щурів з експериментальним цукровим діабетом : матеріали VII пленуму укр. наук. товариства патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячених 110-річчю з дня народження чл.-кор. АМН України проф. М.Н. Зайка, м. Полтава, 11-12 жовт. 2018 р. Полтава : УМСА, 2018. С. 18-19. (*Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів*).

13. Абрамов А.В., Ганчев К.С. Патогенетичні особливості проліферативної активності тканин пародонту щурів із експериментальним цукровим діабетом після екстракції зуба. *Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології (Вісімнадцяті Данилевські читання)* : матеріали щорічної наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 28 лют. – 1 бер. 2019 р. Харків, 2019. С. 18. (*Дисертантом самостійно проведено аналіз даних та сформульовані висновки, постерна доповідь*).

14. Ганчев К.С. Характеристика проліферативної активності тканин пародонту щурів після екстракції зуба на фоні експериментального цукрового діабету. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до сучасної медицини і фармації* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. студ. та молодих вчених з міжнар. участю, м. Харків, 15 трав. 2019 р. Харків : ХНМУ та НФУ, 2019. С. 59.

15. Ганчев К.С., Абрамов А.В. Динаміка проліферативної активності тканин пародонту щурів після екстракції зуба. *Фізіологічний журнал* : матеріали 20-го з'їзду Укр. фізіологічного тов.-ва з міжнар. участю, присвяченого 95-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка, м. Київ, 27-30 трав. 2019 р. Київ : НАН України, Українське фізіологічне товариство ім. П.Г. Костюка, Наукова Рада Президії НАН України з проблеми «Фізіологія людини і тварин» та Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. 2019. *Фізіологічний журнал*. Т. 65, № 3 (дод.). С. 110. (*Дисертантом самостійно проведено аналіз даних та сформульовані висновки, постерна доповідь*).

## ДОДАТОК В

### ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 50-річчю кафедри патологічної анатомії та кафедри патофізіології ЗДМУ (Запоріжжя, 2015) – публікація тез, усна доповідь.

2. 70-а наукова конференція студентів-медиків з міжнародною участю «Актуальные проблемы современной медицинской науки» (Самарканд, 2016) – публікація тез.

3. Національний конгрес патофізіологів України з міжнародною участю: “Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції (Харків, 2016) – публікація тез, усна доповідь.

4. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 105-річчю від дня народження професора Я.Д. Кіршенבלата (Чернівці, 2017) – публікація тез.

5. Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання сучасної медицини і фармації», присвячена 50-річчю заснування ЗДМУ (Запоріжжя, 2018) – публікація тез, усна доповідь.

6. VII пленум українського наукового товариства патофізіологів та науково-практичної конференції, присвячених 110-річчю з дня народження чл.-кор. АМН СРСР проф. М.А. Зайка (Полтава, 2018) – публікація тез.

7. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології (Вісімнадцяті Данилевські читання) (Харків, 2019) – публікація тез.

8. Науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації) (Харків, 2019)

9. 20-й з'їзд Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, присвячений 95-річчю від дня народження академіка П.Г.Костюка. Наукова Рада Президії НАН України з проблеми «Фізіологія людини і тварин» та Інститут



фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України (Київ, 2019) – постерна доповідь, публікація тез.