

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

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

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**ВАРАКУТА ОЛЬГА АНАТОЛІЇВНА**

УДК : 616.314-002-092:612.017.1]:616.34-74]-06:616.379-008.64-092.9

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**РЕАКТИВНІСТЬ ПАРОДОНТУ ПРИ ВИКОРИСТАННІ РІЗНИХ  
ПЛОМБУВАЛЬНИХ МАТЕРІАЛІВ НА ТЛІ  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

(анатоמו-експериментальне дослідження)

14.03.01 – нормальна анатомія

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

\_\_\_\_\_ О.А. Варакута

Науковий керівник – **Куш Оксана Георгіївна**, доктор біологічних наук,  
професор

Запоріжжя – 2020

## АНОТАЦІЯ

*Варакута О.А.* – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – Нормальна анатомія. – Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, 2020.

Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, 2020.

В дисертаційній роботі визначено морфологічні особливості перебудови структур пародонту щурів при використанні різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету.

За результатами проведеного комплексного дослідження, а саме оцінки особливостей фібрило-архітектоніки м'яких тканин пародонту і будови мікроциркуляторного русла власної пластинки ясен щурів експериментальних груп була отримана цілісна картина морфоструктурних перебудов «опорно-утримуючого апарату зубу» при сформованому цукровому діабеті та при його поєднанні із пломбуванням зубів фотополімерною або цементною пломбами. Визначено, що їх встановлення практично не впливає на гісто-топографічні характеристики пародонту щурів, при цьому усі групи колагенових фібрилярних утворювань зберігають добру розгалуженість з поєднанням поодиноких тонких еластичних волокон. Однак цікавою знахідкою у щурів з цементною пломбою порівняно до групи з фотополімерної було виявлення на 2-у тижні спостереження достовірної більшості на 16,2 % зубо-ясеневих волокон колагену та помірне зниження у тварин з фотополімером фібрилогенезу на 6-у тижні. Показник інтенсивності накопичення лектинової мітки фібронектину був меншим порівняно до контролю на 4-у і 6-у тижнях у щурів з фотополімерною пломбою, а з цементною – не відрізнявся від значень контролю протягом всіх строків спостереження. Необхідно відмітити, що після встановлення фотополімерної пломби у щурів було виявлено звуження артеріол і венул в сітчастому шарі, а

після цементної пломби достовірних відмінностей від контролю ідентифіковано не було. Формування та прогресування цукрового діабету показало в парадонті достовірне та прогресуюче зниження товщини колагенових волокон, які ставали значно стоншеними, переривчастими, звивистими, характеризувалися зменшенням інтенсивності накопичення лектинової мітки до PFA<sup>+</sup>-колагену III типу. На 6-у тижні спостереження відмічається зменшення діаметрів артеріол в обох шарах порівно до контролю, в той час як діаметр венул в сосочковому шарі достовірно збільшується. Такі зміни мікроциркуляторного русла проявлялись явищами крововиливів, звуженням просвіту судин мікроциркуляторного русла у власній пластинці слизової оболонки, венозним повнокров'ям і дилатацією просвітів капілярів. При поєднанні експериментального цукрового діабету і наявності різних пломбувальних матеріалів формуються однотипні зміни - значне та прогресуюче з часом достовірне стоншення колагенових волокон порівняно до контролю із максимумом на 6-у тижні спостереження. Еластичні волокна набували переривистий та звивистий характер на всіх 3-х термінах спостереження. За показниками товщини різних груп колагенових волокон достовірної різниці встановлено не було, так само як і не було таких відмінностей порівняно до групи з цукровим діабетом. Порівняння досліджуваних параметрів щурів з фотополімерними пломбами і щурів з цими пломбами на тлі цукрового діабету показало достовірне стоншення волокон вже на 4-у тижні, що досягало максимального зменшення на 6-у. Така сама картина була відмічена при порівнянні цементних пломб і цих самих пломб на тлі ЦД. PFA<sup>+</sup>-волокна колагену III типу при поєднанні ЦД та встановлення пломб характеризувалися розщепленням, переривчастістю, були подрібнені на окремі фрагменти, особливо в сосочковому шарі. Колагеновий каркас ставав дезорганізованим та фрагментованим, особливо на 6-у тижні спостереження від розвитку експериментального цукрового діабету. Показник інтенсивності накопичення лектинової мітки фібронектину був меншим порівняно до контролю на 4-у і 6-у тижнях спостереження у

щурів з обома видами пломбувального матеріалу на тлі діабету. Відбулися значні зміни накопичення мітки до ламініну, що виявлені на 6-у тижні у щурів з фотополімерною пломбою на тлі цукрового діабету.

Дослідження довело, що у тварин зі сформованим цукровим діабетом і наявністю обох видів пломбувального матеріалу у періодонті прогресують зміни у гемомікроциркуляторному руслі через гіперемією судин, периваскулярний набряк та численні крововиливи, що викликає відшарування тканин періодонту від внутрішньої поверхні альвеоли. Сформовані прояви є результатом зменшення діаметру артеріол в обох шарах порівняно до контролю, що було особливо виражено на 6-у тижні, збільшення венул у сосочковому і зменшення в сітчастому шарі, що було характерно виключно для групи з цукровим діабетом з фотополімерною пломбою.

Комплексне дослідження будови епітелію ясен, розподілу глікозаміногліканів в ньому, інтенсивності накопичення вуглеводних полімерів у біоплівці та особливостей мікробного навантаження показало, що в умовно здорових тварин наявність фотополімерного або цементного пломбувального матеріалів у різні строки спостереження не призводить до збільшення товщини епітелію ясен, проте прискорює його зроговіння. В той же час встановлена фотополімерна пломба у щурів з 2-о по 6-й тижні спостереження прогресивно зменшує накопичення ГАГ. На відміну, цементна - не впливає на цей показник протягом усього періоду спостереження. Накопичення вуглеводних біополімерів в біоплівці не залежала від виду пломбувального матеріалу та прогресивно збільшується з 2-о по 6-й тижні спостереження. На мікробне навантаження пародонту у здорових щурів ні цементний ні фотополімерний пломбувальний матеріали суттєвого впливу не чинили. Дослідження показало, що наявність цукрового діабету суттєво впливало на товщину епітелію, яка вірогідно перевищувала відповідний показник контрольних тварин, посилювало процеси зроговівання із лейкоцитарною інфільтрацією, прогресивно зменшувало інтенсивність

накопичення майже всіх ГАГ але збільшувало накопичення вуглеводних біополімерів, паралельно з цим показник мікробного навантаження ставав статистично вище значень контролю вже з 2-о по 6-й тиждень спостереження.

У тварин із встановленими фотополімерним або цементним пломбувальними матеріалами на тлі цукрового діабету було визначено, що відносно тварин із ЦД пломбувальний матеріал не викликав зміни показнику товщини епітелію, накопичення ГАГ прогресивно знижувалось лише у тварин з ЦД та встановленою фотополімерною пломбою, але не з цементною. У групі щурів із ЦД та встановленою фотополімерною пломбою спостерігалось прогресивне збільшення інтенсивності накопичення вуглеводних залишків порівняно із тваринами з ЦД без пломби, а у групі щурів із цементною пломбою воно було на рівні щурів із діабетом. В той же час, мікробне навантаження у групі тварин із експериментальним цукровим діабетом з цементним або фотополімерним пломбувальними матеріалами було вище за показники тварин із цукровим діабетом, проте перші мали статистично менше мікробне навантаження, ніж останні.

Морфологічні особливості будови лімфоїдної тканини асоційованої зі слизовою оболонкою ротової порожнини характеризувалися підвищеною функціональною активністю LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючих клітини при фотополімерній, але без змін при цементній. Загальна кількість лімфоцитів в епітелії та у власній пластинці ясен змінювалась, починаючи з 4-о тижня спостереження, а виразність змін корелювала із видом пломбувального матеріалу та сформованого цукрового діабету. Найбільша кількість лімфоцитів епітелію виявлялась у щурів з поєднанням фотополімерної пломби і цукрового діабету. Суттєвою особливістю топографо-гістологічного розташування клітин стало встановлення більшої їх чисельності у власній пластинці ясен щурів усіх експериментальних груп, значення яких були приблизно однакові із незначним превалюванням кількості у щурів з поєднанням фотополімеру і діабету.

Дослідження особливостей розподілу SBA<sup>+</sup>-B-, HPA<sup>+</sup>- та PNA<sup>+</sup>-лімфоцитів в епітелії і власній пластинці ясен щурів експериментальних груп показало збільшення їх кількості, що залежало від виду пломбувального матеріалу (збільшення їх у щурів з фотополімерним матеріалом майже в 2 рази порівняно до цементної пломби) і ускладненістю цукровим діабетом (при поєднанні втручань кількість HPA<sup>+</sup>-лімфоцитів зменшується). На відміну у випадку з цементною пломбою поєднання цього пломбувального матеріалу з діабетом значно збільшує кількість HPA<sup>+</sup>-лімфоцитів, як при порівнянні з діабетом і пломбою без нього, так і з фотополімерною пломбою. Окремо необхідно відмітити значне збільшення майже в 2-3 рази кількості SBA<sup>+</sup>-B-лімфоцитів у щурів з пломбами різного хімічного складу і діабету. Подібні закономірності були отримані при аналізі вмісту та розподілу у власній пластинці ясен B<sub>1</sub>-лімфоцитів щурів експериментальних груп, які показали значне їх збільшення майже в 3 рази, особливо к 6-у тижню спостереження. При цьому у щурів з різним пломбувальним матеріалом виявлено збільшення кількості цих клітин при фотополімерній пломбі майже на 20 % порівняно до значень щурів з цементною пломбою. Слід зазначити, що аналогічні матеріали на тлі діабету повторили тенденцію, при цьому у щурів з фотополімером на тлі діабету кількість ConA<sup>+</sup>,SBA<sup>+</sup>-B<sub>1</sub>-лімфоцитів була більшою в середньому на 32 % (середній показник за всі строки), а з цементною відбулося навпаки їх зменшення в середньому на 30 %.

Багатокомпонентна імуногістохімічна характеристика популяцій лімфоцитів у власній пластинці ясен тварин експериментальних груп показало збільшення чисельності всіх 4-х типів (CD20<sup>+</sup>-, CD5<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>- та CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів) з максимальною їх кількістю на 6-у тижні дослідження. Достовірних відмінностей між кількістю лімфоцитів на тлі різних пломбувальних матеріалів виявлено не було, тоді як їх встановлення на тлі цукрового діабету показало статистичне значуще зменшення на 2-у тижні спостереження кількості CD20<sup>+</sup>- і CD4<sup>+</sup>- лімфоцитів у щурів з цементною пломбою порівняно до фотополімеру. Цікавими знахідками було виявлення

зменшення на 22,6 % кількості CD20<sup>+</sup>-лімфоцитів у щурів з цементною пломбою на тлі діабету на 2-й тиждень спостереження порівняно до аналогічного строку в щурів з цукровим діабетом, але подальші зміни їх чисельності не були статистично значущі. Такою самою одиничною знахідкою виявилось збільшення кількості CD4<sup>+</sup>- лімфоцитів на 28,6 % у щурів з фотополімерною пломбою на тлі діабету також на 2-й тиждень спостереження порівняно до щурів з цукровим діабетом із подальшими не достовірними змінами кількості при порівнянні.

Таким чином, у дисертаційній роботі за результатами проведеного багатокомпонентного дослідження анатомо-гістологічних змін в тканинах пародонту у щурів із фотополімерним або цементним пломбувальними матеріалами, а також у щурів із встановленими цими же пломбувальними матеріалами на фоні цукрового діабету було виявлено цілий комплекс змін з 2-о по 6-й тижні після їх встановлення. Визначено, що у здорових щурів використання пломбувального матеріалу не залежно від його виду практично не впливає на анатомо-гістологічну структуру тканин пародонту, тоді як використання їх при сформованому цукровому діабеті суттєво її змінює та обтяжує перебіг процесу. Дослідження показало, що встановлення фотополімерного або цементного пломбувального матеріалів на тлі цукрового діабету сприяє прогресуванню анатомо-гістологічних перебудов в пародонті, що первинно ініціюються цукровим діабетом, але прогресують через комплекс проведених маніпуляцій та, безпосередньо, травматизацію слизової оболонки, сприяють порушенню складу мікробіоти ротової порожнини та локальної імунної системи. Паралельно із цим визначено, що встановлення щурам із експериментальним цукровим діабетом цементного пломбувального матеріалу, в порівнянні із фотополімерним, є більш щадним, сприяє меншим морфологічним змінам в тканинах пародонту, збережує склад мікробіоти та імунну реактивність.

**Ключові слова:** експериментальний цукровий діабет, пародонт, фотополімерна та цементна пломби, мікросудинне русло, сполучна тканина ясен, біоплівка.

## SUMMARY

Varakuta O. A. Periodontal reactivity in using various dental filling materials in experimental diabetes mellitus (anatomical experimental study). – Qualifying scientific work on the rights of manuscript.

Thesis for the scientific degree of a Doctor of Philosophy: 14.03.01 – normal anatomy. – Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020.

Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020.

The morphological features of periodontal structures remodeling in using various filling materials in rats with experimental diabetes mellitus have been identified in the thesis.

Based on the comprehensive study results, a holistic picture of morphostructural changes in the "supporting apparatus of the tooth" in diabetes mellitus and in its combination with composite or cement fillings insertion has been provided via assessing the fibrillar architecture of periodontal soft tissues and the microvascular structure of the gingival lamina propria in rats of experimental groups. It has been found that filling insertion had hardly affected the histotopographic characteristics of the periodontium in rats, as all groups of collagen fibrillar structures remained appropriate branching combined with single thin elastic fibers. However, an interesting finding in rats with cement filling compared to the composite group was a significant 16.2 % increase in dentogingival collagen fibers at the 2nd week and a moderate decrease in fibrillogenesis in the animals with the composite one at the 6th week. The intensity of the lectin label of fibronectin accumulation was lower compared to the control at



the 4th and 6th weeks in rats with composite filling, while there were no differences between the cement and the control groups during the entire observational period. A narrowing of the arterioles and venules in the reticular layer after the composite filling insertion in the rats is worth noting, as well as no significant differences between the cement and the control groups. Diabetes mellitus development and progression showed a significant and progressive decrease in the thickness of collagen fibers in the periodontium, which appeared to become significantly thinner, discontinuous, tortuous, and were characterized by a decrease in the intensity of lectin label accumulation to PFA<sup>+</sup> type III collagen. At the 6th week of observation, there was a decrease in the arteriolar diameters in both layers equally to the control, while the venular diameters in the papillary layer were significantly increased. Such microvasculature changes were manifested in hemorrhages, narrowed microvascular lumen in the lamina propria of the mucosa, venous congestion and dilatation of the capillary lumens. Similar changes were detected in experimental diabetes mellitus combined with various filling materials presence - considerable and progressive significant thinning of collagen fibers compared to the control with a maximum at the 6th week of observation. Elastic fibers were discontinuous and tortuous at all 3 time points of observation. There was no significant difference in the different groups of collagen fibers thickness, as well as there were no such differences compared to the diabetes mellitus group. Comparison of the studied parameters between the rats with the composite fillings and the diabetes mellitus rats with these fillings showed a significant thinning of the fibers at the 4th week reaching a maximum reduction at the 6th week. The same picture was observed when comparing between the cement fillings and those in combination with diabetes mellitus. PFA<sup>+</sup> type III collagen fibers in the fillings insertion combined with diabetes mellitus were characterized by disintegration, discontinuity, fragmentation, especially in the papillary layer. The collagen skeleton became disorganized and fragmented, especially at the 6th week of experimental diabetes mellitus onset. The intensity of the lectin label of fibronectin accumulation was lower compared to the control at the 4th and 6th weeks of

observation in rats with both types of filling material combined with diabetes. There were significant changes in the accumulation of laminin label, which were detected at the 6 week in the rats with the composite filling combined with diabetes.

The study has shown progressive changes in the periodontium hemomicrovasculature due to vascular hyperemia, perivascular edema and numerous hemorrhages resulting in detachment of periodontal tissues from the inner surface of the alveolus in the animals with diabetes mellitus and the presence of both filling material types. The developed manifestations resulted from a decrease in the arteriolar diameter in both layers compared to the control, especially at the 6th week, an increase in venules in the papillary and a decrease in the reticular layer, which was typical exclusively for the group with diabetes mellitus and composite filling.

A comprehensive study of the gingival epithelium structure and distribution of glycosaminoglycans in it, the intensity of carbohydrate polymers accumulation in the biofilm and the microbial load features has shown no increase in gingival epithelial thickness in the presence of composite or cement filling materials while accelerating its epidermidalization at different time points of observation in relatively healthy animals. At the same time, the composite filling inserted in rats progressively reduced GAGs accumulation from the 2nd to the 6th week of observation. In contrast, the cement one did not affect this indicator during the entire observation period. The accumulation of carbohydrate biopolymers in the biofilm did not depend on the filling material type and progressively increased from the 2nd to the 6th week of observation. Neither cement nor composite filling materials had a significant effect on the microbial load of the periodontium in healthy rats. The study has revealed that the presence of diabetes considerably affected the epithelial thickness, which significantly exceeded the corresponding index of the control animals, enhanced epidermidalization with leukocyte infiltration, progressively reduced the intensity of almost all GAGs accumulation but increased the accumulation of carbohydrate biopolymers coupled with

statistically increased index of microbial load, as compared to the control values, from the 2nd to the 6th week of observation.

It has been found that the composite or cement filling materials insertion in diabetes mellitus animals did not change the epithelial thickness, GAGs accumulation progressively decreased only in diabetes mellitus animals and the composite filling inserted, but not cement. In the group of rats with diabetes mellitus and composite filling inserted, there was a progressive increase in the intensity of carbohydrate residues accumulation compared to diabetes mellitus animals without filling, while it was at the level of diabetes mellitus rats in the cement-filling group. However, the microbial load in the animal group with experimental diabetes mellitus and cement or composite filling materials was higher than that in the animals with diabetes mellitus, but the former had a statistically lower microbial load than the latter.

Morphological features of the structure of oral mucosa-associated lymphoid tissue were characterized by increased functional activity of LCA<sup>+</sup> -antigen presenting cells in the composite filling, but without changes in the cement one. The total number of lymphocytes in the epithelium and in the gingival lamina propria changed from the 4th week of observation, and the severity of changes were correlated with the filling material type and diabetes mellitus developed. The highest number of epithelial lymphocytes was found in rats with the composite filling and diabetes mellitus combination. Notable topographic and histological features were presented in a greater number of cells located in the gingival lamina propria of all experimental groups, the values of which were approximately the same with a slight predominance in rats with the composite filling and diabetes mellitus combination.

The study of SBA<sup>+</sup> -B-, HPA<sup>+</sup> - and PNA<sup>+</sup> -lymphocyte distribution in the epithelium and gingival lamina propria of the experimental rats has showed an increase in their number, which depended on the filling material type (a 2-fold increase in the composite filling compared to the cement one) and a complication by diabetes mellitus (the number of HPA<sup>+</sup> lymphocytes was decreased in combined

interventions). In contrast, in the case of cement filling combined with diabetes mellitus, the number of HPA<sup>+</sup> lymphocytes was significantly increased in comparison to both diabetes and filling without it, and compared to the composite filling. Of particular note was an almost 2-3 times significantly increased number of SBA<sup>+</sup>-B-lymphocytes in the rats with various types of filling materials and diabetes. Such patterns were obtained by analyzing the content and distribution of B1-lymphocytes in the gingival lamina propria of the experimental rats, demonstrating an almost 3 times significant increase, especially by the 6th week of observation. Meanwhile, the rats with different filling material showed an increase in the number of these cells in the composite filling by almost 20 % as compared to the values of rats with the cement filling. It should be noted that these materials combined with diabetes mellitus repeated the trend, as rats with composite filling and diabetes mellitus were found to have higher number of ConA<sup>+</sup>, SBA<sup>+</sup> -B1-lymphocytes on average by 32 % (the mean for all time points), while these indicators were reduced by an average of 30 % in the cement filling, on the contrary.

Multicomponent immunohistochemical assessment of lymphocyte populations in the gingival lamina propria of the experimental animals has revealed an increase in the number of all 4 types (CD20<sup>+</sup> -, CD5<sup>+</sup> -, CD4<sup>+</sup> - and CD8<sup>+</sup> - lymphocytes) with their maximum number at the 6 week of the study. No significant differences between the number of lymphocytes in different filling materials insertion were found, while demonstrating a statistically significant decrease in CD20<sup>+</sup> - and CD4<sup>+</sup> - lymphocytes in the rats with the cement filling compared to the composite one when combined with diabetes mellitus at the 2nd week of the study. Interesting findings were a 22.6 % decrease in the number of CD20<sup>+</sup> lymphocytes in cement-filling rats with diabetes at the 2 observational week compared to the same period in the diabetic rats, but changes in their numbers were not statistically significant later on. Similar single finding was an increase in the number of CD4<sup>+</sup> - lymphocytes by 28.6 % in the rats with the composite filling and diabetes at the 2nd week likewise as compared to the

diabetes mellitus rats with insignificant changes in the number on further comparison.

Thus, based on the thesis results of the multicomponent study on the anatomical and histological changes in periodontal tissues in the rats with the composite or cement filling materials, as well as in the rats with these filling materials combined with diabetes mellitus, a broad range of changes has been found from the 2nd to the 6th week after insertion. The use of filling material, regardless of its type, has been found almost not to affect the anatomical and histological structure of periodontal tissues in the healthy rats, while it significantly changed the periodontal tissues in diabetes mellitus developed, complicating the course of the latter. The study has revealed that the composite or cement filling materials insertion in combination with diabetes mellitus contributed to the progression of anatomical and histological changes in the periodontium, initially induced by diabetes mellitus, but progressed due to a series of procedures and, directly, the mucous membrane traumatization, resulting in oral microbiota and local immune system alterations. At the same time, the cement filling material insertion in rats with experimental diabetes mellitus has been found to be gentler compared to the composite one, promoting less morphological changes in the periodontal tissues, preserving the microbiota composition and immune reactivity.

**Key words:** experimental diabetes mellitus, periodontium, dental composite and cement fillings, microvasculature, gingival connective tissue, biofilm.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Куш О. Г., Варакута О. А. Адаптова методика постановки пломбувального матеріалу. *Укр. мед. альманах*. 2012. Т. 15, № 5 (додаток). С. 158–160.
2. Куш О. Г., Варакута О. А. Особливості структури біоплівки епітелію зубодесневої борозни в нормі та при наявності пломбувального матеріалу у щурів. *Вопросы экспериментальной и клинической стоматологии* : сб. науч. тр. Харьков : ХНМУ, 2015. Вып. 11, ч. 1 : материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием «Гофунговские чтения» в рамках празднования 210-летия ХНМУ и междунар. Дня стоматолога, Харьков 10 февр. 2015 г. С. 74–78.
3. Варакута О. А. Виявлення  $CONA^+$ ,  $SBA^+$ - $B_1$ - лімфоцитів в тканинах парадонту в нормі і при наявності пломбувального матеріалу на тлі цукрового діабету. *Актуальні питання медичної науки та практики* : зб. наук. праць. Запоріжжя, 2015. Вип. 82, т. 2, кн. 1. С. 37–41.
4. Варакута О. А., Куш О. Г. Особливості розподілу глікозаміногліканів у пародонті щурів при наявності фотополімерної пломби і цукрового діабету. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2016. Т. 15, № 1 (55). С. 42–45.
5. Варакута О. А., Куш О. Г. Особливості будови мікроциркуляторного русла м'яких тканин пародонту при використанні різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету в динаміці. *Вісник проблем біології і медицини*. 2016. Вип. 2, т. 1 (128). С. 364–367.
6. Варакута О. А., Куш О. Г. Реактивність лімфоїдного компонента пародонта під час використання різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2019. Т. 12, № 3 (31). С. 365–371.

7. Varakuta O. A., Kushch O. G. Features of morpho functional changes in periodontal structures in rats with the presence of a photo of a polymer or cement seal. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10 (10). P. 300–313. DOI : <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2020.10.10.029>.

8. Кущ О. Г., Варакута О. А. Розподілення лімфоцитів в тканині пародонту щурів. *Современные достижения медицинской и фармацевтической науки* : сб. тез. I Междунар. интернет-конф. молодых ученых и студентов, 23-25 окт. 2012 г., г. Запорожье. Запорожье, 2012. С. 16.

9. Кущ О. Г., Варакута О. А. Особливості розподілу лімфоцитів в тканині пародонту у щурів. *Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини* : зб. тез та доп. міжнар. наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених (Суми, 10-12 квіт. 2013р.). Суми, 2013. С. 56.

10. Кущ О. Г., Варакута О. А., Зідрашко Г. А. Особливості будови біоплівки епітелію ясневої борозни в нормі та при наявності пломбувального матеріалу. *Сучасні аспекти медицини і фармації - 2013* : зб. тез. доп. Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, присвяч. Дню науки, м. Запоріжжя, 16-17 трав. 2013 р. Запоріжжя, 2013. С. 63.

11. Варакута О. А. Характеристика композиційного полімерного пломбувального матеріалу. *Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук* : III регіон. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих учених з всеукр. участю, м. Запоріжжя, 29 листоп. 2014 р. Запоріжжя, 2014. С. 243–245.

12. Варакута О. А. Особливості розподілу глікозаміногліканів, фібронектину і ламініну в тканинах пародонту. *Актуальні проблеми клінічної, теоретичної, профілактичної медицини, стоматології та фармації* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Одеса, 10-11 квіт. 2015 р. Одеса, 2015. С. 28–30.

13. Варакута О. А., Кущ О. Г., Чертов С. О. Особливості виявлення  $\text{ConA}^+$ ,  $\text{SBA}^+\text{V}_1$ -лімфоцитів в тканинах пародонту в нормі і при наявності пломбувального матеріалу. *Стоматологія Придніпров'я* : Третя (III)

міжрегіон. наук.-практ. конф., м. Дніпропетровськ, м. Запоріжжя, 16 квіт. 2015 р. Дніпропетровськ ; Запоріжжя, 2015. С. 19–21.

14. Кущ О. Г., Варакута О. А. Особливості будови лімфоїдного компоненту тканин пародонту при різних типах пломбувального матеріалу. *Морфологічні дослідження - виклики сучасності* : зб. тез доп. наук.-практ. конф., м. Суми, 23-24 квіт. 2015 р. Суми, 2015. С. 24–25.

15. Варакута О. А., Кущ О. Г. Лектингістохімічна характеристика лімфоцитів тканини пародонту в нормі і при експериментальному цукровому діабеті. *Гуманітарний та інноваційний ракурс професійної майстерності: пошуки молодих учених* : матеріали I міжнар. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих учених, м. Одеса, 24 квіт. 2015 р. Одеса, 2015. Ч. II. С. 28–29.

16. Кущ О. Г., Варакута О. А. Особливості дослідження антигенпрезентуючих клітин в епітелії і слизовій оболонці ясен. *Науковий потенціал молоді - прогрес медицини майбутнього* : матеріали XIII наук.-практ. конф. з міжнар. участю студентів та молодих вчених, м. Ужгород, 22-25 квіт. 2015 р. Ужгород, 2015. С. 5.

17. Варакута О. А. Особливості архітектоніки сполучної тканини ясен в нормі та при її структурній перебудові на тлі експериментального цукрового діабету. *Матеріали XIX міжнар. мед. конгресу студентів і молодих вчених, присвяч. пам'яті ректора, чл.-кор. НАМН України, проф. Ковальчука Л.Я.*, м. Тернопіль, 27-29 квіт. 2015 р. Тернопіль, 2015. С. 318.

18. Варакута О. А. Розподіл глікозаміногліканів в тканинах пародонту при експериментальному цукровому діабеті. *Сучасні аспекти медицини і фармації - 2015* : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, присвяч. Дню науки, м. Запоріжжя, 14-15 трав. 2015 р. Запоріжжя, 2015. С. 9.

19. Кущ О. Г., Варакута О. А. Реактивные морфо-функциональные изменения тканей зуба на постановку фотополимерной пломбы. *Вестн. Рос.*



*Гос. Мед. ун-та.* 2015. № 2 : X Междунар. (XIX Всерос.) Пироговская науч. Мед. Конф. студентов и молодых ученых, г. Москва, 19 мар. 2015 г. С. 763.

20. Варакута О. А. Выявление  $\text{CONA}^+$ ,  $\text{SBA}^+$ - $\text{V}_1$ - лимфоцитов в тканях пародонта в норме и при наличии пломбировочного материала на фоне сахарного диабета. *Актуальні питання анатомії, гістології, ембріології, топографічної анатомії*: тези доп. VI конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України. Запоріжжя, 16-18 вересня 2015 р. Запоріжжя, 2015.– С. 17-18.

21. Варакута О. А. Особенности строения биопленки зубодесневой борозды на фоне экспериментального сахарного диабета. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2015*: сб. тез. докл. 69-й науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием. – Минск: БГМУ, 2015. – С. 463.

22. Варакута О. Особливості накопичення колагенів в тканині пародонту в нормі та після встановлення фотополімерного та цементного пломбувального матеріалу. *Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук*: зб. тез доп. V регіон. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих учених, присвяч. 30-річчю біол. ф-ту ЗНУ (м. Запоріжжя, 26 листоп. 2016 р. ). - Запоріжжя : ЗНУ, 2016. – С. 88-89.

23. Варакута О. А., Куц О. Г. Розподіл глікозаміногліканів в пародонті щурів при наявності різних типів пломбувального матеріалу. *Science and life : Proc. of articles the international scientific conference, Czech Republic, Karlovy Vary - Kyiv, Ukraine, 22 December 2017.* Karlovy Vary: Skleněný Můstek. С. 176–182.

## ЗМІСТ

	Перелік умовних скорочень	22
	Вступ	24
Розділ 1	Огляд літератури	32
1.1	Особливості нормальної будови тканин пародонту щура	32
1.1.1	Гістоморфологічна структура пародонту щурів	32
1.1.2	Анатомо-гістологічна характеристика фібрило-архітектоніки м'яких тканин пародонту	35
1.1.3	Стан локальної імунної системи пародонту щурів в нормі	39
1.1.4	Роль мікробіоти в забезпеченні нормальної структури пародонту та місцевому імунному захисті ротової порожнини щурів	42
1.2	Проблематика захворюваності на цукровий діабет та його вплив на стан тканин пародонту та мікробіоти ротової порожнини в експерименті	44
1.2.1	Вплив цукрового діабету на гістоморфологічну структуру пародонту щурів	44
1.2.2	Вплив експериментального цукрового діабету на стан локальної імунної системи в пародонті щурів	46
1.2.3	Вплив експериментального цукрового діабету на стан мікробіоти ротової порожнини щурів	48
1.3	Вплив пломбувального матеріалу на тканини пародонту щурів та сучасний підхід до аналізу пломбувального матеріалу в експерименті	49
1.3.1	Аналіз пломбувального матеріалу та стан експериментальних досліджень його впливу в експерименті	50

Розділ 2	Матеріали і методи дослідження	53
2.1	Дизайн та об'єкт дослідження	54
2.2	Методика постановки пломби у тварин	56
2.2.1	Методика постановки фотополімерної пломби	57
2.2.2	Методика постановки склоіномерної цементної пломби	59
2.3	Методи дослідження	60
2.3.1	Анатомічний (оглядовий) метод дослідження	61
2.3.2	Морфометричний, мікроскопічний і гістологічний методи	61
2.3.3	Гістохімічний метод виявлення і диференціювання вуглеводвміщуючих сполук	63
2.3.4	Гістобактеріологічний метод	63
2.3.5	Лектингістохімічний метод	64
2.3.6	Імуногістохімічний метод	66
2.3.7	Статистичний метод	66
Розділ 3	Особливості фібрило-архітектоніки м'яких тканин пародонту і будови мікроциркуляторного русла власної пластинки ясен щурів експериментальних груп	68
3.1	Особливості фібрилоархітектоніки м'яких тканин пародонту щурів експериментальних груп	68
3.2	Особливості розподілу адгезивних білків у м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп	82
3.3	Особливості будови мікроциркуляторного русла власної пластинки ясен щурів експериментальних груп	85
Розділ 4	Гістоморфологічні особливості ясневого епітелію, розподілу глікозаміногліканів, накопичення біополімерів та мікробного навантаження у щурів експериментальних груп	99
4.1	Гістоморфологічні особливості епітелію ясен у щурів	99

	експериментальних груп	
4.2	Особливості розподілу глікозаміногліканів в тканинах пародонту у щурів експериментальних груп	107
4.3	Особливості накопичення біополімерів у щурів експериментальних груп	112
4.4	Особливості мікробного навантаження в біоплівці ротової порожнини щурів експериментальних груп	119
РОЗДІЛ 5	Особливості будови асоційованої зі слизовою оболонкою ротової порожнини лімфоїдної тканини у щурів експериментальних груп	125
5.1	Характеристика LCA+-антигенпрезентуючих клітин в епітелії та власній пластинці ясен тварин експериментальних груп	125
5.2	Особливості розподілу лімфоцитів в епітелії і власній пластинці ясен щурів експериментальних груп	133
5.3	Особливості розподілу HPA+-лімфоцитів в епітелії і власній пластинці ясен щурів експериментальних груп	140
5.4	Особливості розподілу PNA+-лімфоцитів в епітелії і власній пластинці ясен щурів експериментальних груп	145
5.5	Характеристика SBA+-В-лімфоцитів у власній пластинці ясен тварин експериментальних груп	148
5.6	Характеристика B1-лімфоцитів у власній пластинці ясен тварин експериментальних груп	153
5.7	Імуногістохімічна характеристика лімфоцитів у власній пластинці ясен тварин експериментальних груп	156
Розділ 6	Обговорення і узагальнення отриманих результатів	166
	Висновки	180

	Список використаної літератури	184
Додаток А	Акти впровадження	204
Додаток Б	Список опублікованих автором праць на тему дисертації	210
Додаток В	Відомості про апробацію результатів дисертації	214

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

КВ – косі волокна

АВ – апікальні волокна

біс-ГМА – гліциділметакрилаті бісфенолу А

біс-ДМА – диметакрилат бісфенолу А

ВАГ – волокна альвеолярного гребня

ГАГ – глікозаміноглікани

ГВ – горизонтальні волокна

ДК – дендритні клітини

ЕГДМА – диметакрилат етиленгліколю

К – контрольна група, інтактні щури

КПГ – кінцеві продукти гліколізування

МКВ – міжкореневі волокна

МТА – мінеральний триоксидний агреат

ТВ – транссептальні волокна

ТЕГДМА – диметакрилат триетиленгліколя

уОП – умовні одиниці площі

Ф – щури з встановленою фотополімерною пломбою

Ц – щури з встановленою цементною пломбою

ЦД – цукровий діабет

ЦД – щури з модульованим експериментальним цукровим діабетом

ЦД+Ф – щури з встановленою фотополімерною пломбою на фоні експериментально індукованого цукрового діабету

ЦД+Ц – щури з встановленою цементною пломбою на фоні експериментально індукованого цукрового діабету

BSP-II – сиалопротейн-II

Con A – конканавалін А

FGFR-1 – рецептори фібробластів 1-го типу (fibroblast growth factor receptor)

GF – germ-free

HPA – лектин виноградного слимака

ICAM-1 – молекули міжклітинної адгезії (intercellular cell adhesion molecule)

IDF – Міжнародна Діабетична асоціація

Ig – імуноглобуліни

IL – інтерлейкін

IL-1 $\beta$  – інтерлейкін 1 $\beta$

LCA – лектин сочевиці

MMP-1 – матрична металопротеїназа 1(matrix metalloproteinases)

MMP-8 – матрична металопротеїназа 8(matrix metalloproteinases)

NK – природні кілери

OPG – остеопротерин

OPN – остеопонтин

PAMP – патогенно-асоційовані молекулярні структури

PFA – лектин ікри окуня

PGE2 – простагландину E2

PNA – лектин арахісу

RAGE – рецептори до продуктів гліколізування

RANKL – активатор рецептора ліганду ядерного фактора  $\kappa$ B

RANK-L/RANK – receptor activator of NF –  $\kappa$ B ligand

SBA – лектин сої

SPF – специфічний мікробний патоген (specific-pathogen-free)

TLR – толл-подібні рецептори

TNF- $\alpha$  – фактор некрозу пухлини  $\alpha$

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Останні роки цукровий діабет (ЦД) через збільшення темпів його розповсюдження стає дуже актуальною міжнародно досліджуваною темою. За офіційною статистикою МОЗ України у 2017 році налічує 1,27 млн. хворих цією патологією [1]. Необхідно зазначити, що ЦД характеризується великим різноманіттям ускладнень, не виключенням з яких є і стоматологічні – ксеростомія, карієс, гінгівіт, парадонтит та інші [2].

Такий широкий спектр ускладнень, що обов'язково формуються у хворих на цукровий діабет, є наслідком структурно-функціональних змін сполучної тканини ясен і періодонту, мікроциркуляції, імунної системи і мікробіоти пародонту [3]. Локально сформовані ускладнення являють собою результат прогресування та поєднання системних змін – мікро- й макроангіопатій, нейропатій та обмінних порушень [4-5]. Саме через ці сформовані ускладнення у хворих на цукровий діабет не тільки дуже швидко погіршується стан зубо-щелепного апарату, доведено обтяжування перебігу основного захворювання через поєднання негативних впливів патологічних станів [6-7].

Сьогодні перед лікарем-стоматологом стає важливе питання – ефективний вибір реставраційного матеріалу для лікування зубів, що повинен відповідати цілій низки умов: серед яких найголовніші – це мала інвазивність, високі естетичність та тривалість використання, зручність у праці та співвідношення ціна-якість [8-9]. У хворих на цукровий діабет додаються ще умови – це мінімізація додаткових пошкоджуючих маніпуляцій (обробка кислотами, дезрозчинами, УФО-опромінення).

Стрімкий розвиток стоматології посприяв розробці високого різноманіття пломбувальних матеріалів, більшість з яких майже повністю відповідають вищеписаним умовам. Проте їх ефективність досліджувалась



виключно у пацієнтів, що не мають соматичної патології та, особливо, складних метаболічних розладів і ендокринопатій. Слід також зазначити, що методики їх встановлення мають суттєві відмінності. Так фотополімерний матеріал полімеризується шляхом світлової реакції фотополімерною лампою в порожнині рота, що може впливати на стан мікробіоти та локальної імунної системи [10]. Тоді як пломба зі склоіономерного цементу не поступається за естетичними властивостями фотополімерним та не потребує застосування додаткового обладнання, що не травмує слизову оболонку та не порушує склад мікробіоти.

Незважаючи на широке використання цих пломбувальних матеріалів та встановлення їх пацієнтам із різними хронічними захворюваннями, в тому числі і ЦД, майже відсутні об'єктивні данні щодо характеру їх впливу на реактивність пародонту, у край недостатньо комплексних та систематичних досліджень в яких були б показані переваги, або недоліки того чи іншого пломбувального матеріалу, нез'ясовані питання щодо впливів фотополімерної або цементної пломб на стан тканин пародонту, локальної імунної системи та мікробіоти ротової порожнини саме у хворих на цукровий діабет.

#### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертація є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії і кафедри гістології, цитології та ембріології Запорізького державного медичного університету: «Лектингістохімічна характеристика морфогенезу органів і тканин в ранньому постнатальному періоді в нормі і експерименті» (2008-2013 рр., № державної реєстрації 0109U 003986) та «Реактивність органів новонароджених після дії антигенів та факторів різної природи у внутрішньоутробному періоді» (2015-2018 рр., № державної реєстрації 0115U003875). Дисертант є співвиконавцем тем.

**Мета дослідження:** визначити морфологічні особливості перебудови структур пародонту щурів при використанні різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету.

**Завдання дослідження:**

1. Визначити морфологічні особливості архітекtonіки волокон сполучної тканини та судин мікроциркуляторного русла пародонту щурів при використанні пломбувальних матеріалів різної природи (фотополімерна або цементна пломби) в нормі та на тлі експериментального цукрового діабету в різні строки спостереження (на 2-у, 4-у та 6-у тижні).

2. Дослідити особливості реактивних змін епітелію слизової оболонки ясен та надати вуглеводно-мікробіологічну характеристику біоплівки ротової порожнини щурів при використанні пломбувальних матеріалів різної природи (фотополімерна або цементна пломби) в нормі та на тлі експериментального цукрового діабету в різні строки спостереження (на 2-у, 4-у та 6-у тижні).

3. Вивчити особливості складу та розподілу лімфоцитів і антиген-презентуючих клітин пародонту щурів при використанні пломбувальних матеріалів різної природи (фотополімерна або цементна пломби) в нормі та на тлі експериментального цукрового діабету в різні строки спостереження (на 2-у, 4-у та 6-у тижні).

4. Встановити якісні, кількісні та топографічні закономірності морфофункціональних змін волокон та судин мікроциркуляторного русла, лімфоцитів та антигенпрезентуючих клітин пародонту, епітелію слизової оболонки та біоплівки ясен щурів при використанні пломбувальних матеріалів різної природи (фотополімерна або цементна пломби) в нормі та на тлі експериментального цукрового діабету в різні строки спостереження (на 2-у, 4-у та 6-у тижні).

**Об'єкт дослідження:** морфологічні особливості перебудови структур пародонту щурів при використанні пломбувальних матеріалів різного хімічного походження на тлі експериментального цукрового діабету.

**Предмет дослідження.** Морфологічна характеристика волокон, судин мікроциркуляторного русла, лімфоцитів, антигенпрезентуючих клітин пародонту, епітелію слизової оболонки та біоплівки ясен щурів в нормі, на тлі цукрового діабету та при використанні пломбувальних матеріалів різної хімічної природи.

**Методи дослідження:** анатомічний (описання зовнішнього вигляду пародонту), морфометричний, мікроскопічний, гістологічний і гістохімічний (вивчення популяцій лімфоцитів, антигенпрезентуючих клітин, волокон сполучної тканини пародонту), лектингістохімічний, гістомікробіологічний (підрахунок кількості мікробних клітин в біоплівці), імуногістохімічний, модель експериментального моделювання цукрового діабету, математико-статистичний (аналіз достовірності отриманих кількісних результатів дослідження).

**Новизна дослідження.**

На експериментальній моделі цукрового діабету і при поєднанні діабету з стоматологічним втручанням та використанням пломбувального матеріалу різної хімічної природи (фотополімерної або цементної пломб) встановлено зв'язок між особливостями морфологічної перебудови структур м'яких тканин пародонту щурів залежно від виду пломбувального матеріалу.

Вперше вивчено кількість, топографію і лектингістохімічну характеристику LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючих клітин, популяції лімфоцитів (HRA<sup>+</sup>-, SBA<sup>+</sup>-, PNA<sup>+</sup>-, B<sub>1</sub>-лімфоцити) та проведено гістохімічне дослідження CD5<sup>+</sup>-, CD20<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів в епітелії і власній пластинці слизової ясен щурів з експериментальним цукровим діабетом та після встановлення різних за хімічною природою пломбувальних матеріалів (фотополімерна або цементна пломби).

Досліджено структурну перебудову волокон сполучної тканини та судин мікроциркуляторного русла пародонту на тлі експериментального цукрового діабету, наявності пломбувального матеріалу та поєднанні

експериментального цукрового діабету і наявності фотополімерного або цементного матеріалу в динаміці.

Розширено розуміння взаємозв'язку між глікобіологічною характеристикою та кількісним складом мікроорганізмів біоплівки ротової порожнини щурів з експериментальним цукровим діабетом та після встановлення різних за хімічною природою пломбувальних матеріалів (фотополімерна або цементна пломба).

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати проведених досліджень доповнюють існуючі уявлення про механізми розвитку запальних процесів, таких як пародонтит, на тлі цукрового діабету і при використанні різних пломбувальних матеріалів. Такі захворювання мають хронічний характер, пов'язані зі змінами кількісного та якісного складу нормальної мікробіоти ротової порожнини та порушеннями адгезивних властивостей біоплівки.

Визначений взаємозв'язок між особливостями будови біоплівки слизової ротової порожнини з характером розподілу імунокомпетентних клітин м'яких тканин пародонту при використанні пломбувального матеріалу різної хімічної природи на тлі цукрового діабету, що дає можливість прогнозувати та попереджати виникнення розвитку патологічних процесів в пародонті та обґрунтовано обирати пломбувальний матеріал максимально адаптивний до таких умов.

Поглиблене розуміння особливостей перебудови волокон та окремих сполучень екстрацелюлярного матриксу сполучної тканини (глікозаміноглікани, фібронектин, ламінін) і судин мікроциркуляторного русла ясен на тлі індукованого цукрового діабету та при використанні пломбувального матеріалу різної хімічної природи дозволить прогнозувати в майбутньому виникнення патологічних станів у стоматологічних пацієнтів і надавати можливість вибору безпечного пломбувального матеріалу.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом самостійно проведений інформаційний пошук, проаналізована сучасна наукова література з теми

роботи, сформульовані мета та завдання дослідження та розроблено дизайн його виконання. Автор самостійно проводила морфологічні дослідження та особисто систематизувала отримані результати, написала всі розділи дисертаційної роботи, підготувала до друку наукові праці, впровадила наукові розробки в роботу начальних закладів України. Автор не запозичувала ідеї та розробки співавторів публікацій.

### **Апробація результатів дисертації.**

Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на міжнародних та всеукраїнських наукових форумах: I Международная интернет-конференция молодых ученых и студентов, 23-25 окт. 2012 г.; «Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини» Міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих вчених (Суми, 10-12 квіт. 2013р.); «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2013» Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена Дню науки, м. Запоріжжя, 16-17 трав. 2013 р.; «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук» науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих учених з всеукраїнською участю, м. Запоріжжя, 29 листопада 2014 р.; «Актуальні проблеми клінічної, теоретичної, профілактичної медицини, стоматології та фармації» міжнародна науково – практична конференція, м. Одеса, 10-11 квіт. 2015 р.; «Стоматологія Придніпров'я» III міжрегіональна науково-практична конференція, м. Дніпропетровськ, 16 квіт. 2015 р.; «Морфологічні дослідження - виклики сучасності» науково-практична конференція, м. Суми, 23-24 квіт. 2015 р.; «Гуманітарний та інноваційний ракурс професійної мастейнорсті: пошуки молодих учених» I міжнародна науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих учених, м. Одеса, 24 квітня 2015 р.; «Науковий потенціал молоді - прогрес медицини майбутнього» XIII науково-практична конференція з міжнародною участю студентів та молодих вчених, м. Ужгород, 22-25 квіт. 2015 р.; «XIX міжнародний

медичний конгрес студентів і молодих вчених, присвяч. пам'яті ректора, чл.-кор. НАМН України, проф. Ковальчука Л.Я.», м. Тернопіль, 27-29 квіт. 2015 р.; «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2015» Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена Дню науки, м. Запоріжжя, 14-15 трав. 2015 р.; «X Международная (XIX Всероссийская) Пироговская научная Медицинская Конференция студентов и молодых ученых, г. Москва, 19 мар. 2015 г.; «Актуальні питання анатомії, гістології, ембріології, топографічної анатомії» VI конгрес анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України. Запоріжжя, 16-18 вересня 2015 р.; «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2015» 69-й науково-практична конференція студентів і молодих вчених з міжнародною участю, м. Мінськ, БГМУ, 2015; «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук» V регіональна науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих учених, присвячена 30-річчю біологічного факультету ЗНУ (м. Запоріжжя, 26 листоп. 2016 р.); «Science and life» the international scientific conference, Czech Republic, Karlovy Vary, 22 December 2017.

Нові теоретичні положення дисертації використовуються в навчальному процесі на кафедрі клінічної і оперативної хірургії Української медичної стоматологічної академії; на кафедрі анатомії людини Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського; кафедрі гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедрі клінічної анатомії, анатомії і оперативної хірургії ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України»; кафедрі гістології, цитології та ембріології Запорізького державного медичного університету.

Апробація дисертаційної роботи відбулася на спільному засіданні кафедр Запорізького державного медичного університету 15 грудня 2020 року.

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 23 наукові праці: 7 статей, серед яких 1 стаття в закордонному журналі і 3 статті в наукових фахових виданнях України, 16 тез у матеріалах міжнародних і Всеукраїнських з'їздів і науково-практичних конференцій.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 215 сторінках друкованого тексту, складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаної літератури, який містить 170 джерел (з них 70 – кирилицею, 100 – латиною) та додатків. Дисертація ілюстрована 16 таблицями та 49 рисунками.

# РОЗДІЛ 1

## СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ ПАРОДОНТУ ЩУРА ТА ВПЛИВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ І ПЛОМБУВАЛЬНОГО МАТЕРІАЛУ НА ЙОГО СТАН В ЕКСПЕРИМЕНТІ

### 1.1 Особливості нормальної будови тканин пародонту щура

#### 1.1.1 Гістоморфологічна структура пародонту щурів

Анатомічне поняття «пародонт» об'єднує комплекс анатомічних утворень – це ясна, періодонт, кісткова тканина альвеоли і цемент кореня зуба. Об'єднане поняття «пародонт» вказує на комплекс тканин, що оточують зуб, в тому числі епітеліальну тканину та сполучнотканинний матрикс. Слизова оболонка ясен вкрита багат шаровим плоским зроговіваючим епітелієм. Ясенний край покритий зроговіваючим плоским епітелієм та щільно сполучений із окістям, частіше за все на рівні емалево-цементної межі, тому глибина зубо-ясневого карману співпадає із висотою ясенного сосочку. Базальні епітеліоцити представлені за допомогою напівдесмосом, що з'єднані з базальною мембраною та мають у щурів високу проліферативну активність. Міжзубні сосочки вкриті плоским неороговіваючим епітелієм [11].

Власна пластинка слизової оболонки ясен тварин представлена сполучною тканиною, в якій розрізняють сосочковий і сітчастий шар у вільній частині та сітчастий шар в регіоні нижньої частини ясенної борозни, який без чітких меж трансформується в сполучну тканину періодонту. Поширеним компонентом сполучної тканини пародонту є колаген. Електронно-мікроскопічні та імуногістохімічні дослідження показали, що колагенові компоненти пародонту організовані в чіткі архітектурні ансамблі. Слід зауважити, що волокна пародонту містять гетеротипну суміш колагенів,



основним компонентом яких є колаген типу I [12]. У яснах колагенові волокна розташовані як у вигляді великих щільних пучків, так і у вигляді пухкої сітки із тонких коротких волокон, що складаються переважно з колагенів як типу I, так і типу III [13]. Крім цього рядом дослідників виявлено кілька інших типів колагену, в тому числі типу IV, V, VI, XII та XIV. Хоча колаген типу I має генералізований розподіл по власній пластинці слизової оболонці, колаген типу III представлений більш дифузно і переважно локалізується поблизу епітеліальної поверхні у вигляді більш тонких волокон з ретикулярним малюнком. Колаген V типу, за думкою вчених, представлений у вигляді тоненьких паралельно розміщених волокон, що вкривають щільні волокна, які в свою чергу представлені колагеном I та III типу. Колаген VI типу представлений у сполучній тканині ясен у вигляді дифузного мікрофібрилярного візерунку і у більшості розміщується біля базальної мембрани. Наявність колагену IV типу у щурів обмежується зовнішньою базальною пластинкою, тоді як зовнішня та внутрішня пластини містять ламінін [12, 14].

Крім колагену в пародонті широко представленими є протеоглікани. У сполучній тканині ясен основним глікозаміногліканом (ГАГ) є сульфат дерматану, тоді як гепарансульфат переважає в епітелії. Окрім вищевказаних ГАГ, на сьогоднішній день в гомогенатах ясен імуногістохімічним способом ідентифіковані декорин, біглікан та версикан [15]. Цікавим виявилася встановлена закономірність, що в яснах виявлення сульфату дерматану та декорину асоціюється з колагеновими волокнами, він поширений на межі сполучної тканини і епітелію, там же де представлений і біглікан, але у відносно невеликій кількості. В той же час сульфат гепарану міститься переважно в базальних мембранах епітелію та ендотелію капілярів [16-17].

Також сьогодні детально описано розподілення в пародонті таких компонентів сполучної тканини як фібронектин, остеонектин, вітреонектин та еластин [12, 18.]. Важливою складовою взаємодії клітини тканин пародонту із міжклітинним матриксом є інтегрини. Вони є рецепторами

клітинної поверхні до білків матриксу. Їх велике різноманіття в пародонті щурів досить добре описано в науковій літературі [19-20].

Цемент є ще одним важливим компонентом пародонту. Він має схожий гістологічний вигляд з альвеолярною кісткою та дентином, містить органічну матрицю з колагенів та глікопротеїнів, вбудованих у кальцифіковану матрицю. Колагенові волокна первинного цементу є дрібними, довільно орієнтованими та вбудованими в гранульовану матрицю, тоді як у вторинному цементі волокна колагену грубі, орієнтовані під прямим кутом до волокон Шарпея та розміщені паралельно до поверхні кореня. Клітинний і сполучнотканинний склади в цементі різняться і їх склад залежить від розміщення відносно кореня зуба. Так, коронкова частина поверхні кореня покрита «безклітинним і афібрилярним цементом», в якому відсутні як колагенові волокна, так і клітини, тоді як у середньокореневій області корінь покритий «безклітинним зовнішнім волокнистим цементом», який має волокнистий компонент (волокна Шарпея), але клітин немає. В апікальній частині кореневої поверхні «клітинний цемент» містить як зовнішні (волокна Шарпея) так і внутрішні колагенові волокна, а також клітини (цементоцити). «Репаративний цемент» має лише внутрішню систему волокон. Необхідно відмітити, що 90 % органічної матриці цементу складається з колагену I та III типів, в той час як волокна Шарпея складаються з колагену I, III та XIV типів, цемент містить колаген V або VI типу періцеллюлярно [21-22]. Слід зазначити, що в якості додаткових компонентів цемент включає такі білки як кістковий сиалопротеїн-II (BSP-II), остеопонтин (OPN), тенасцин, фібронектин та остенектин. В органічній матриці цементу також виявлено кілька видів протеогліканів, причому переважним є сульфат хондроїтину. Компоненти протеогліканів тісно пов'язані з цементобластами і розподіляються по всій матриці. З цементу виділено кілька біологічно активних поліпептидів, які мають значення для формування сполучної тканини та регенерації тканин [12, 23-25]. Альвеолярна кістка, як складова пародонту також має свої особливості. Так, згідно наведених наукових

даних, велика частина органічних компонентів альвеолярної кістки припадає в основному на колаген I і II типів, з переважанням першого [26]. Інші компоненти, що ідентифікуються в цій тканині, включають BSP-II, OPN, фактори росту, хондроїтин сульфат, гепаран сульфат, сульфат дерматану та гіалоронат [27]. ГАГ розташовані на остеоцитах у їх лакунах, а також у навколишньому мінералізованому матриксі. Основним протеогліканом, який ідентифікується в альвеолярній кістці є багатий хондроїтином сульфат, який, швидше за все, є сумішшю декорину та біглікану [12]. Встановлено також, що в альвеолярній кістці тканині остеобласти експресують певні інтегрини та їх субодиниці [19].

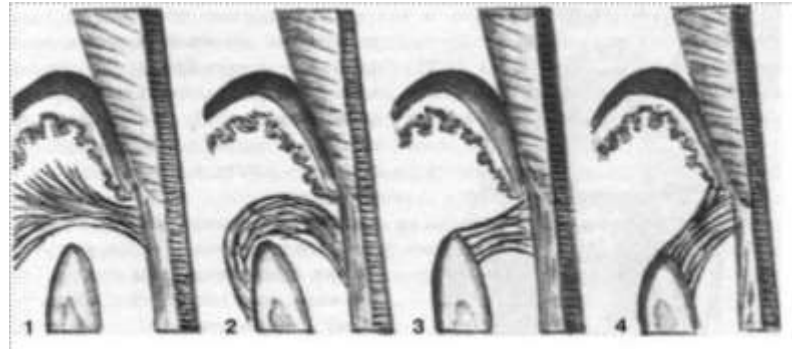
Наступною важливою складовою тканин пародонту є його мікроциркуляторне русло. При гістологічному дослідженні мікроциркуляторного русла періодонта дослідники відмічали інтенсивне кровопостачання. В періодонті щурів було показано чотири основних типи мікросудин – поверхневий, які розміщені нижче судин епітелію прикріплення, але вище верхівки альвеолярного відростка, і три судинних пучка, що розмежовані між собою широкими ділянками щільної сполучної тканини. На гістологічних зрізах в поверхневих шарах судини періодонта щурів, згідно даних деяких авторів, виглядають поперечно перерізними, що вказує на їх горизонтальне розташування. Гемомікросудини третього пучка проходять паралельно до осі кореня, від них відходять капіляри, за рахунок яких утворюється сплетіння. Між артеріальними та венозними судинами періодонта щурів знаходяться численні анастомози, які забезпечують інтенсивність кровообміну даної ділянки [28].

### **1.1.2 Анатомо-гістологічна характеристика фібрило-архітектоніки м'яких тканин пародонту**

Сполучна тканина ясен представлена волокнистими фібрилами, клітинами (фібробласти, лімфоцити, лейкоцити, макрофаги і плазматичні

клітини) та базальною субстанцією, що виконує роль фіксуючого матриксу. До фібрилярних утворень належать колагенові і еластичні волокна різних типів. За думкою F.A Carranza (1996) колагенові волокна є не тільки найпоширенішими з усіх сполучно-тканинних елементів ясен (60-65%), але і грають важливу роль у біомеханічній функції – фіксуючи краєві ясна навпроти зубу, протистоять жувальному навантаженню і з'єднують крайові ясна з цементом шийки зуба і прилеглої фіксованою частиною ясен [29]. Дослідження розподілу колагенів I, III и IV типів різними методиками розпочалося ще багато років тому, але вже з 1981 року достеменно відомо, що колаген III типу локалізується у верхніх шарах ясен, тобто під епітелієм, у періодонті та в стінках кровоносних судин [30]. Саме така його поширеність у яснах дозволяє використовувати його як маркер локального стану «опорно-утримуючого апарату зубу» і в залежності від ступеню експресії оцінювати показники модулю пружності (напруги тканин). В залежності від анатомічних частин ясен колагенові волокна мають особливість топографії, що формує ступінь міцності і ригідність – здатності протидіяти жувальному навантаженню. Так хід колагенових волокон маргінальної частини ясен слід систематизувати у анатомічні групи: 1) дентино-гінгівальні – хід яких проходить від цементу кореню до власної пластинки слизової ясен; 2) альвеолярно-гінгівальні – від альвеолярного гребню до власної пластинки слизової ясен; 3) циркулярні волокна – що розташовані навколо шийки зуба; 4) трансептальні волокна – що проходять над та між альвеолярною перетинкою і йдуть до сусідніх зубів; 5) періостальні (косі) – від періосту альвеолярного відростку до цементу зубу [31]. В свою чергу у «Пародонтології» Н.Ф. Данилевського волокна маргінального пародонту в залежності від прикріплення поділяють на: зубоясенні – з dna ясенної борозни і вплітаються у власну пластинку ясен; зубоперіостальні – також з dna ясенної борозни, але нижче зубоясенних волокон вплітаючись у періост; зубоальвеолярні горизонтальні – з цементу (альвеоли) і фіксуються на

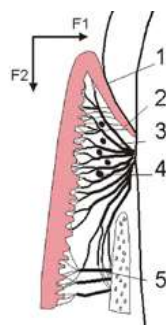
альвеолярному гребні; зубогребінкові – з цементу і до альвеолярного гребня (рис. 1.1) [32].



Примітка. 1 — зубоясенні; 2 — зубоперіостальні; 3 — зубоальвеолярні горизонтальні; 4 — зубогребінкові.

Рисунок 1.1 – Класифікація волокон маргінального пародонту за Данилевським Н.Ф. [32]

В залежності від біомеханічної ригідності сполучної тканини ясен волокнисті елементи слід поділяти на два типи: 1) структури, що адаптовані до деформації на стиснення – це радіально розташовані волокна крайової і фіксованої частини ясен (часто переплітаються з циркулярним) і структури за типом «аркад», прилеглі до епітелію прикріплення; 2) структури, що адаптовані до деформації на зсув – присутні в сосочковому шарі власної пластинки ясен добре розвинені пучки 1 і 2 порядку (рис. 1.2) [33].



Примітка. 1 – епітелій прикріплення; 2 – аркадний тип фібро-архітекτονіки; 3 – волоконнофібрилярний тип фібро-архітекτονіки; 4 – циркулярні пучки волокон; 5 – альвеолярно-ясеневі пучки волокон; F1 і F2 - вектор докладання зусиль на ясна при акті жування.

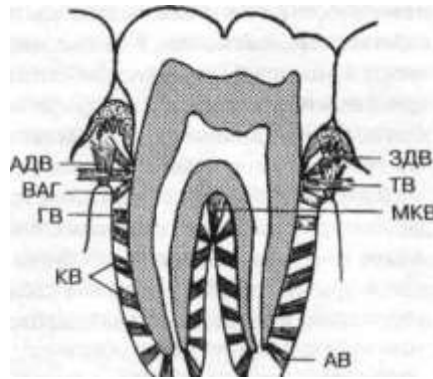
Рисунок 1.2 – Топографія волокон ясен в залежності від біомеханічної ригідності сполучної тканини [33].

У структурі періодонта, як у будь-якої сполучної тканини, є волокна, клітинні елементи, судини, нерви і основна речовина. Періодонт містить колагенові, окситаланові (проміжні між колагеновими і еластичними волокнами, локалізуються біля шийки зуба), аргірофільні (в ділянках періодонта, де він з'єднується з кістково-мозковими просторами щелеп) і еластичні (у вигляді тонких волоконець розташовуються між пучками колагенових волокон) волокна [34].

Колагенові волокна характеризуються злегка хвилястим ходом, від чого здатні трохи подовжуватися при натягу, завдяки чому, вони забезпечують обмежені рухи зуба. Велика кількість колагенових волокон в ділянці шийки зуба мають радіальний і циркулярний напрямок та утворюють кругову зв'язку зуба. Біля апікального отвору волокна мають вертикальний хід, а в ділянці бокових поверхонь кореня зуба напрямок змінюється на тангенціальний. У верхівковій частині періодонту певна кількість фіброзних пучків йде в радіальному напрямку, обмежуючи бічні рухи зуба. Вертикально розташовані волокна в ділянці дна альвеоли, що перешкоджають висуванню зуба з лунки [35].

Залежно від ділянок прикріплення і напрямку пучки колагенових волокон поділяються на: 1. Транссептальні волокна (ТВ) – пучки волокон у горизонтальному напрямку, що з'єднують між собою сусідні зуби; 2. Волокна альвеолярного гребня (ВАГ) – зв'язують пришийкову поверхню зуба із гребнем альвеолярної кістки; 3. Горизонтальні волокна (ГВ) – розташовуються глибше волокон альвеолярного гребня. Вони утворюють циркулярну зв'язку, до складу якої входять також транссептальні волокна; 4. Косі волокна (КВ) – займають середні 2/3 періодонтального простору. У напрямку коронки ці волокна з'єднуються з горизонтальними, а в напрямку верхівки – з апікальними; 5. Апікальні волокна (АВ) – йдуть перпендикулярно від апікальної частини кореня до дна альвеоли; мають горизонтальний і вертикальний напрямок; 6. Міжкореневі волокна (МКВ) – у багатокореневих зубах зв'язують корінь зуба в ділянці біфуркації з гребенем

міжкореневої перегородки. Вони розташовуються частково в горизонтальному, частково у вертикальному напрямку (рис. 1.3) [36].



Примітка. ВАГ – волокна альвеолярного гребня; ГВ – горизонтальні волокна; КВ - косі волокна; АВ – апікальні волокна; МКВ - міжкореневі волокна; ТВ - транссептальні волокна; ЗДВ – зубоясеневі волокна; АДВ – альвеолярно-ясенні волокна.

Рисунок 1.3 – Основні групи волокон періодонта [36]

### 1.1.3 Стан локальної імунної системи пародонту щурів в нормі

Роль імунної системи, асоційованої зі слизовими оболонками, полягає в підтримці балансу між розвитком імунних реакцій і процесами толерантності на тлі постійних контактів з потенційно патогенними і непатогенними мікроорганізмами і харчовими антигенами. Вроджена імунна система в пародонті складається з множинних типів клітин, включаючи епітеліальні клітини, клітини Лангерганса CD83<sup>+</sup> в слизовій оболонці порожнини рота, тканинні макрофаги, нейтрофіли та дендритні клітини (ДК) у власній пластинці ясен, крім цього туди входять фібробласти зв'язок (ligamenti) пародонту та мезенхімальні клітини. Ці різні типи клітин можуть прямо чи опосередковано брати участь у презентації антигену наївним В- і Т-клітинам (як CD4<sup>+</sup>, так і CD8<sup>+</sup>), які складають адаптивну ланку клітинного імунітету слизової рота. Їх спільна роль у пародонті – захист від вторгнення патогенів та підтримання місцевого гомеостазу та цілісності тканин. Зокрема, активоване опосередкованим спрацьовуванням різних сигнальних шляхів Толл-подібних рецепторів (TLR) можуть безпосередньо ініціювати вроджену

імунну відповідь, яка, в свою чергу, може контролювати появу та/або баланс адаптивних імунних відповідей. TLR – це специфічні рецептори розпізнавання, які реагують на патогенно-асоційовані молекулярні структури (PAMP), сигналізація яких може призводити до виявлення мікробних інфекцій, активації вродженої імунної відповіді, подальшій активації та модуляції адаптивного імунітету, і, отже, спрацьовуванню антибактеріальної захисної реакції господаря [37].

Наразі відомо, що мікробні патогени часто можуть пригнічувати TLR-опосередковану імунну відповідь, або блокуючи сигнали від них, шляхом зниження рівня експресії TLR [38]. TLR експресуються на різних клітинах імунної системи та на поверхні епітелію. Встановлено, що TLR2, TLR3, TLR4 і TLR5 диференційовано експресуються на епітелії ротової порожнини, бронхів та шлунково-кишкового тракту [39-40]. Розпізнавання збудника за допомогою TLR, експресованих на епітеліальних клітинах, призводить до продукування цитокінів, хемокінів та антимікробних пептидів. Вони індукують активацію епітеліальних клітин та залучають клітини запалення до заражених ділянок. Конститутивні взаємодії TLR з коменсальними мікроорганізмами ротової порожнини також необхідні для підтримки гомеостазу ротової порожнини [41].

Диференціальна експресія TLR на мієлоїдних та лімфоїдних клітинах контролює різні види імунної відповіді. Усі імунні клітини, включаючи нейтрофіли, еозинофіли, тучні клітини, Т-, В-лімфоцити, природні кілери (NK), моноцити/макрофаги та дендритні клітини, експресують власні унікальні набори TLR. Останні дослідження показали, що експресія TLR розрізняє підмножини дендритних клітин, що визначає їх диференціацію та активацію, а також їх функцію в розвитку наступної вродженої та адаптивної імунної відповіді [42]. Сигналізація, що опосередкована TLR, може функціонувати як перемикач, який перетворює дендритні клітини з фагоцитарних у потужні антигенпрезентуючі клітини. Цитокіни, що виділяються через TLR-сигнали, можуть потужно впливати на послідовні



адаптивні відповіді Т-лімфоцитів, які опосередковані дендритними клітинами. Фагоцити, та субпопуляції Т-лімфоцитів представляють відповідно неспецифічну та специфічну клітинну ланку локального імунітету пародонту. Гуморальна ланка представлена В-лімфоцитами. Вони виробляють специфічні антитіла, що спрямовані проти патогенних збудників, та виділяють широкий спектр медіаторів запалення. Нарешті, вони мають властивість до презентації антигену, тим самим ще більше стимулюючи імунну відповідь. Встановлено, що антитіла, які виділяються плазматичними клітинами, виконують кілька функцій. Вони покривають патоген (опсонізують), полегшуючи фагоцитоз макрофагами, або нейтралізують специфічну функцію антигену простим зайняттям активної області рецептора збудника [43]. Найбільш представленим видом антитіл в пародонті є імуноглобуліни (Ig) IgG та IgA [44]. З іншого боку, слина є також джерелом IgA і має здатність нейтралізувати бактерії, що відповідальні за розвиток пародонтиту [45]. На сьогодні існують дослідження які свідчать про те, що сила гуморальної складової імунної відповіді є показником збереження здоров'я пародонту або швидкого видужання від хвороб пародонту. Рівні IgG, спрямованих проти певних періодонтальних патогенів, у сироватці крові вищі у осіб з кращим станом тканин пародонту [46-47].

Сьогодні встановлені цікаві функціональні зв'язки між імунокомпетентними клітинами та остеоцитами, в т.ч. і альвеолярної кістки. Більшість дослідників схильні пояснювати процеси резорбції кісткової тканини при ряді патологій пародонту саме наявністю цих зав'язків. Показано, що поєднуючою ланкою між активацією локальної імунної відповіді в пародонті та резорбцією кістки є баланс між рецептором, що активує ядерний фактор транскрипції K $\beta$ , його лігандом – RANK-L/RANK (receptor activator of NF – K $\beta$  ligand) та їх інгібіторним білком остеопрогерином – OPG. Так, в ряді досліджень показано, що такі цитокіни, як IL-1, IL-6, IL-11, IL-17, TNF- $\alpha$  сприяють тому, що остеобласти та Т-лімфоцити починають активно експресувати RANK-ліганд, рецептори до

якого широко представлені на поверхні попередників остеокластів. При взаємодії RANK та RANK-ліганду на поверхні остеокласту формується зрілий багатоядерний остеокласт. Тому дослідники логічно припускають, що якщо баланс RANK –L/остеопрогерин зміщується в сторону збільшення експресії RANK –L то це призведе до домінування процесів резорбції кісткової тканини [48-49].

#### **1.1.4 Роль мікробіоти в забезпеченні нормальної структури пародонту та місцевому імунному захисті ротової порожнини шурів**

За класичними поглядами, мікробіом не входить до складу пародонту, та на сьогодні добре описана роль коменсальної флори в функціонуванні його тканин. Перш за все, слід відмітити вплив коменсалів ротової порожнини на стан клітинної та гуморальної ланок локального імунітету. Так Najishengallis et al. на прикладі *P. gingivalis* показали, що окремий збудник навіть в невеликій кількості може викликати зміни в системі хазяїн-ротовий мікробіом. Так заселення цієї бактерії до ротової порожнини гизунів без специфічного мікробного патогену (specific-pathogen-free, SPF), призводила до виникнення втрати кісткової тканини пародонту, локальному збільшенні експресії прозапальних медіаторів, таких як інтерлейкін-17 (IL), IL-6, активатора рецептора ліганду ядерного фактора κB (RANKL), активації системи комплементу [50]. Високий рівень IL-1β у мишей SPF був встановлений в дослідженнях D.R. Dixon et al. [51]. З іншого боку, описуючи клітинну ланку імунітету, K. Irie et al. встановили, що коменсальні бактерії ротової порожнини експериментальних гризунів, в більшості, стимулюють вроджену захисну систему пародонту, регулюючи кількість нейтрофілів [52]. Ці данні доповнили деякі інші дослідники, котрі показали, що у мишей лінії SPF спостерігалось значно більше нейтрофілів, розташованих у епітелії та сполучній тканині пародонту, ніж у мишей GF. Крім того, експресія молекул міжклітинної адгезії (intercellular cell adhesion molecule, ICAM-1) що є

критично важливою адгезійною молекулою для міграції нейтрофілів, в епітелії також була значно вищою у SPF мишей, ніж у мишей що не містять мікробів (germ-free, GF) [53-54]. Деякі дослідження стверджують, що накопичення нейтрофілів в епітелії не слід розглядати як перший крок до пародонтиту, а як нормальну складову захисної системи хазяїна, і це не пов'язано з руйнівним процесом [55]. Так, Fujioka M. et al. встановили, що міграція нейтрофілів через періодонт є однією із умов, необхідних для підтримки структури і нормального функціонування тканини пародонту. Їх висновки базувалися на задокументованій конститутивній експресії ICAM-1. Базуючись на отриманих результатах, автори стверджують, що ці явища лише посилюються за рахунок мінімального запалення, викликаного коменсальними бактеріями, і можуть впливати на деградація сполучної тканини пародонту [56]. Крім того, неодноразово було показано, що коменсальні бактерії забезпечують значну користь для господаря, блокуючи колонізацію патогенів та впливаючи на нормальний розвиток тканинної структури. Повідомлялося також, що втрата маси альвеолярної кістки, що природньо виникає у щурів, істотно зменшується у спеціальних мишей що не містять мікробів (germ-free, GF), порівняно з мишами SPF [50, 57]. З іншого боку, рядом вчених були виявлені певні особливості в експресії ряду важливих білків, що беруть участь в утворенні міжепітеліальних контактів. Так, було показано, що миші GF та SPF виражають подібні рівні секреторного інгібітора лейкоцитарної протеази і карцино-ембріональних антиген-пов'язаних молекул клітинної адгезії [58-59]. Крім того зараз активно вивчається внесок нормальних коменсальних бактерії в процеси ремоделювання пародонтальної сполучної тканини. Так K. Irie et al. показали в своїх дослідженнях, що нормальні коменсальні бактерії регулюють також експресію рецепторів до фактору росту фібробластів 1-го типу (fibroblast growth factor receptor, FGFR-1), матричних металопротеїназ 1 та 8 (matrix metalloproteinases, MMP-1, MMP-8) в епітелії, і зменшують щільність колагену в пародонті. Автори стверджують, що вплив коменсальної

мікробіоти на сполучну тканину пародонту може бути як прямим шляхом, оскільки продукти бактерій дифундують в неї, так і непрямим, оскільки взаємодія бактерій з епітеліальними клітинами надалі впливає на сполучну тканину пародонту при участі цитокінів, вироблених епітеліальними клітинами [52].

## **1.2 Проблематика захворюваності на цукровий діабет та його вплив на стан тканин пародонту та мікробіоти ротової порожнини в експерименті**

На сьогодні епідеміологічні дані, що свідчать про поширеність, захворюваність на цукровий діабет є невтішними. Так, ЦД за швидкістю приросту захворюваності залишає далеко позаду такі актуальні інфекційні захворювання, як туберкульоз та ВІЛ-інфекцію. ВООЗ та Міжнародна Діабетична асоціація (IDF) в своїх прогнозах схиляються до того, що до 2030 року хворих на ЦД стане 552 мільйони, а до 2035 їх кількість зросте до 529 млн. людей, тоді як станом на 2014 рік їх нараховувалося 382 млн. Слід зауважити, що в Україні станом на 2013 рік за даними IDF нараховувалося 1,04 млн хворих, серед яких більше половини (605 тис.) займали жінки. Було уточнено, що більше ця хвороба в Україні представлена у міського населення, ніж у сільського (734 тис. проти 310 тис.) [60-61]. Цукровий діабет підступний своїми ускладненнями. Стоматологічні прояви ЦД дуже різноманітні. Найбільш поширеними серед них є гінгівіт та парадонтит. Слід зауважити, що ЦД спричинює ряд патологічних змін в сполучній тканині, в локальній імунній системі та в мікробіомі пародонту [62].

### **1.2.1 Вплив цукрового діабету на гістоморфологічну структуру пародонту щурів**

Сьогодні є велика кількість наукових даних про морфоструктурні зміни в пародонті при цукровому діабеті. Так, Буйдачієв Г.А. та Доменюк Д.А.,

на основі аналізу ультраструктурних змін, що виникають в епітелії ясен щурів на тлі експериментального цукрового діабету прийшли до висновків, що цей патологічний стан призводить до значного потовщення епітеліального пласта в неприкріпленій частині ясен, паракератозу, поглибленню сполучнотканинних сосочків. З часом виникають ознаки гострого запалення, які лише прогресують в подальшому. Також автори описали зміни в мікроциркуляторному руслі. Вони довели, що у власній пластинці ясен щурів відбувається розкриття резервних капілярів, спостерігається гіперемія судин з наступним їх плазматичним просочуванням, а потім склерозом і гіалінозом стінок артеріол і окремих капілярів. Дослідники відмітили велику кількість крововиливів, периваскулярний набряк, котрий обумовлює відшарування тканин пародонту від внутрішньої поверхні зубної лунки [63]. Інші дослідники повідомляли про потовщення капілярної базальної мембрани в тканинах ясен у гризунів та хворих на цукровий діабет. Було встановлено, що посилена взаємодія продуктів гліколізування з ендотеліальними клітинами збільшує в них окислювальний стрес, що призводить до додаткового пошкодження судин і до описаних морфологічних змін в них [64-65].

Ряд дослідників сходяться в думці, що потужним фактором розвитку цілого ряду ускладнень з боку пародонту при цукровому діабеті є гіперглікемія. Вчені зауважують, що висока концентрація глюкози може призвести до непрямих пошкоджень через утворення кінцевих продуктів гліколізування (КПГ) та до прямого пошкодження клітин за рахунок порушення внутрішньоклітинних метаболічних шляхів. При цьому підвищена концентрація глюкози індукує неферментативне гліколізування та окислення білків, таких як колаген, та ліпідів, що призводить до накопичення КПГ в тканинах пародонту при діабеті [66]. Біологічний ефект КПГ опосередковується відповідним рецептором (RAGE), який експресується на різноманітних типах клітин, включаючи ендотеліальні та епітеліальні клітини, лімфоцити та моноцити [67-68].

Важливо відмітити, що підвищена експресія КПП та RAGE була продемонстрована в тканинах ясен у хворих на цукровий діабет 2 типу із пародонтозом порівняно із здоровими людьми [69]. Підкріплюючи ці результати, експериментальні дослідження на гризунах також повідомили про підвищену експресію КПП та RAGE у тварин з експериментальним цукровим діабетом [70-71].

У щурів із експериментальним цукровим діабетом в ряді досліджень був встановлений посилений апоптоз остеобластів пародонта та фібробластів. Як наслідок, відбувається зменшення кількості життєздатних клітин, що може пояснювати, принаймні частково, зменшення відновлення кісткової тканини, пов'язане з пародонтозом у гризунів [72-73]. Крім всього відміченого також було показано, що в гризунів з експериментальним цукровим діабетом виникає посилення експресії ясенної желатинази та вироблення колагенази, через це - зниження синтезу колагену. В сукупності всі ці процеси призводять до дисбалансу продукції та розпаду компонентів сполучної тканини, що буде супроводжуватись порушення регенерації тканин пародонту [74].

### **1.2.2 Вплив експериментального цукрового діабету на стан локальної імунної системи в пародонті щурів**

Зміни імунологічної реактивності при цукровому діабеті є невід'ємною складовою перебігу цього патологічного стану. На сьогодні досить добре описані зміни як в клітинній так в гуморальній складовій локальної імунної системи пародонту при експериментальному цукровому діабеті. Так, описано дефектну реакцію нейтрофілів у щурів із цукровим діабетом. Нейтрофіли у таких тварин виявляли посилений ролінг та адгезію *in vivo* на фоні порушення хемотаксису *in vitro* [75].

Camen G.C. et al. описали стан лімфоцитів при цукровому діабеті в періодонті. Так вчені встановили, що CD3+ лімфоцити (цей кластер

диференціації присутній у мембрані всіх зрілих Т-клітин і відсутній у інших типах лімфоцитів) розташовані в сполучнотканинній структурі пародонту, більшість клітин розташовувалися під покривним епітелієм та навколо кровоносних судин, а у районах, де покривний епітелій містив ерозії або некрози, запальний інфільтрат був значно багатшим на Т-лімфоцити, аніж решта тканин пародонту. Також у структурі покривного епітелію були помічені Т-лімфоцити не тільки серед клітин базального шару, а й серед поверхневих шарів. Таку морфологічну особливість розподілу Т-лімфоцитів у великій кількості в структурі покривного епітелію пародонту щурів при цукровому діабеті автори пов'язують із вираженою хемотаксичною активністю антигенів у ротовій порожнині відносно клітин імунної системи, а також із здатністю Т-лімфоцитів до самостійної рухової активності. На відміну від Т-лімфоцитів, В-лімфоцити в пародонті експериментальних тварин були набагато менш представленими в запальному інфільтраті сполучнотканинної частини пародонту, дифузно розподіленими, та відносно рідкісними клітинними елементами, розташованими більше периваскулярно, або на рівні сосочків. Реакція В-лімфоцитів у пародонті корелювала з місцевою запальною реакцією, в тому сенсі, що якщо запальний процес був інтенсивним, також збільшувалася їх кількість. Автори стверджують, що, за результатами їх досліджень Т-лімфоцити є найбільш представленими клітинами імунної системи при пародонтопатіях, пов'язаних із цукровим діабетом, порівняно з В-лімфоцитами та макрофагами [76].

З іншого боку, групою науковців було показано, що моноцити у хворих на цукровий діабет продукують фактор некрозу пухлини  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) від 24 до 32 разів більше порівняно з групою контролю. Ця ж група дослідників також встановила підвищену концентрацію інтерлейкіну  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) та простагландину E2 (PGE2) в культурах моноцитів пацієнтів із цукровим діабетом 1-го типу, порівняно з пацієнтами без діабету з однаковою стадією пародонтозу [77]. Механізм цього явища вчені пов'язують із тим, що мононуклеарні фагоцити на своїй мембрані експресують вже згадані вище

рецептори до продуктів гліколізування (RAGE). Взаємодія цих рецепторів із своїм лігандом на поверхні цих клітин приводить до індукції окисного стресу, активує ядерний фактор транскрипції  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ) клітин із наступною експресією прозапальних цитокінів. В свою чергу, взаємодія RAGE із своїм лігандом на поверхні ендотеліальних клітин призводить до підвищеної експресії молекул адгезії на них, що сприяє адгезії мононуклеарних фагоцитів на стінку судини [78-80]

### **1.2.3 Вплив експериментального цукрового діабету на стан мікробіоти ротової порожнини щурів**

Декомпенсація вуглеводного обміну негативно відображається на нормальному стані мікробіоти ротової порожнини. Підвищення концентрації глюкози в слині на фоні значного зменшення її виділення в ротову порожнину (ксеростомії) є важливим несприятливим фактором впливу на характер бактеріальної флори ротової порожнини [80]. В той же час дані Claudino M. et al. свідчать, що у щурів із експериментальним цукровим діабетом відносно контрольних тварин немає різниці як у кількісному, так і в якісному бактеріальному навантаженні пародонта. На думку авторів важливо враховувати, що загострення пародонтопатії, що уже розвилася, на тлі цукрового діабету відрізняється від ситуації коіндукції, коли класичні пародонтопатогени мали б бути відсутніми в нормальних умовах. Тоді логічно припустити, що встановлення захворювань пародонту є результатом загостреної реакції на звичайний подразник, якою є пародонтопатогенна під деснева мікрофлора [81]. До висновку, що наявність діабет 1 або 2 типу має значного ефекту на склад мікробіоти ротової порожнини прийшли в своєму огляді і Taylor et al. [82].

З іншого боку, недавні дослідження, що вивчали можливий зв'язок між складом пародонтальної флори у хворих на цукровий діабет за допомогою



секвенування 16S рРНК знайшли докази того, що є різниця у складі пародонтального мікробіому у пацієнтів при цукровому діабеті [83-84].

Дослідження оральної мікробіоти у хворих на ЦД методом полімеразної ланцюгової реакції показали також зміну мікробного складу ротової порожнини при ЦД, і, більш того, продемонстрували ці зміни лише у погано контрольованих хворих [85-86]. Врешті, дослідники сходяться на тому, що сучасні дані про зміни мікрофлори ротової порожнини при цукровому діабеті є суперечливими і, відповідно, потребують подальших досліджень для поновлення фактичного матеріалу [87].

### **1.3 Вплив пломбувального матеріалу на тканини пародонту щурів та сучасний підхід до аналізу пломбувального матеріалу в експерименті**

На сьогоднішній день щури є найбільш підходящою моделлю для вивчення впливу пломбувального матеріалу на пародонт. Дослідники заявляють, що після пломбування молярних зубів щурів, клітини, подібні до одонтобластів, утворюють типовий репаративний дентин – ідентичний такому у людини. Однак процес біологічної відповіді прогресує швидше у щурів, ніж у людей адже, як відомо місяць життя щура еквівалентний 30 місяцям у людини [88-89]. Науковці звертають увагу, що окрім можливої хімічної токсичності пломбувальних матеріалів, найважливішою небезпекою для тканин пульпи зубів після її пломбування є бактеріальна інфекція та/або інфільтрація бактеріальними токсинами. У щурів ротова бактеріальна флора найбільш порівнянна з людиною [90]. Багаточисленні дослідження сформували стійке ствердження, що бактеріальне зараження життєздатної тканини пульпи призводить до її некрозу та бактеріального забруднення корневих каналів. Stashenko P. Et at. al. показали, що по відношенню до реакції бактеріальної флори корневих каналів модель щурів дуже подібна до моделі приматів та людей [91].

Однак моляри щурів демонструють виняткову стійкість та репаративну здатність, що необхідно враховувати при інтерпретації результатів експерименту. Навіть за відсутності будь-якого пломбувального матеріалу у щурів спостерігається спонтанне утворення калькосфериту (шару сфероїдальних солей кальцію що утворюється в результаті дегенеративних змін клітин). Це утворення калькосферитів призводить до осадження остеодентиноподібного матриксу між демінералізованими залишками пульпи. Як правило, запальні процеси у щурів стихають протягом одного тижня, коли відбуватиметься активація клітин-попередників для репаративного дентиногенезу. Репаративний дентиногенез розпочинається протягом двох тижнів, і, за наявності гідроксиду кальцію в якості засобу, що закупорює пульпу, протягом наступних двох тижнів утворюється товстий дентиновий місток [92]. Незважаючи на той факт, що щури з етичної та біологічної точки зору – є чудовою моделлю для дослідження впливу пломбувального матеріалу на стан тканин пародонту, перед дослідником стає ряд технічних аспектів, які треба брати до уваги. Так малий розмір зубів вимагає використання відповідних інструментів (наприклад, бур з максимальним розміром ISO 008) і збільшувальних окулярів або мікроскопа. Анатомічне положення молярних зубів ззаду від великої діастеми, яка відокремлює їх від різців, ускладнює доступ до зони лікування. М'які тканини, такі як язик та щоки, можуть також значно зменшити візуальний доступ до операційної зони. Отже, правильне розташування голови щура з відкритим візуальним доступом до ротової глотки є наріжним каменем для успішного проведення будь-якої процедури [93].

### **1.3.1 Аналіз пломбувального матеріалу та стан експериментальних досліджень його впливу в експерименті**

На сьогодні в стоматологічній практиці широко використовуються стоматологічні композитні суміші. Вони представляють собою складні

суміші матеріалів, які зазвичай складаються з матриці з органічної смоли, армуючого неорганічного наповнювача і силанового сполучного агента, який пов'язує наповнювач і матрицю смоли та зазвичай використовуються в якості зубного матеріалу для реставрації, наприклад, при виготовленні пломб і вінірів, а також при цементації коронок. Композити без наповнювачу і сполучного агента зазвичай використовуються в якості герметиків, які ефективно ізолюють ями і тріщини, щоб допомогти запобігти карієсу. Композитні смоли виготовляються із суміші мономерів і найчастіше засновані на гліциділметакрилаті бісфенолу А, (біс-ГМА), або інша його назва – мономер Боуена. Завдяки появі нових варіантів лікування композити на основі біс-ГМА вважаються одним з найбільш значних інновацій сучасної стоматології. На додаток до біс-ГМА композитні смоли зазвичай включають інші мономери для модифікації властивостей смоли, наприклад, диметакрилат бісфенолу А (біс-ДМА), диметакрилат етиленгліколю (ЕГДМА) і диметакрилат триетиленгліколя (ТЕГДМА) [94]. З іншого боку, сучасний склоіономерний цемент може використовуватися як альтернатива композитній фотополімерній пломбі. Склоіономерний цемент відповідає усім необхідним вимогам: високі адгезивні властивості, естетика, стійкість до вологи, міцність, фізичні коефіцієнти, східні з коефіцієнтами тканин зубів людини, тривалий строк виділення іонів фтору в тканини зуба, зручність в постановці, велику зносостійкість [95]. Хоча сьогодні описані певні особливості впливу вищевказаних матеріалів на стан тканин пародонту та мікробіом ротової порожнини [96,97], питання впливу різного роду лікувальних матеріалів на стан мікробіому пародонту на стан його тканин залишається не достатньо описаним в сучасній науковій літературі, і в особливості, за умов такого поширеного системного захворювання, як цукровий діабет. Отже, беручи до уваги всю проаналізовану сучасну літературу, можна сказати, що сьогодні погляди вчених на взаємовплив стану локальної імунної системи пародонту, стану мікробіоти пародонту на його

гісто-морфологію є досить складним. Схематично його можна представити наступним чином:



Рисунок 1.4 – Схема можливих взаємодій між локальною імунною системою пародонту, мікробіомом пародонту та тканинами пародонту (за A. S. Narayan et. al) [98]

З наведених вище літературних даних показано, такий поширений мультисистемний патологічний процес, як цукровий діабет негативно впливає як на локальну імунну систему, так і на сполучно-тканину частину пародонту і в меншій мірі на стан мікробіому ротової порожнини, що є вагомим фактором ризику виникнення і ускладнення пародонтопатій, які потребують стоматологічного втручання [99]. В той же час, проведений аналіз літератури показав, що питання вибору пломбувального матеріалу і його впливу на стан сполучнотканинної структури пародонту, його імунної системи а також на стан мікробіому ротової порожнини сьогодні є недостатньо описаним, не зважаючи на те, що вирішення цього питання є актуальним для сучасної стоматологічної практики та фундаментальних дисциплін, особливо нормальної анатомії.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на базі лабораторій навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету (свідоцтво про технічну компетентність № 033/18 від 25.12.2018, чинне до 25.12 2023).

Робота виконана на білих лабораторних щурах лінії Wistar. Щурів отримували з віварію ПП «Біомодельсервіс» ІФТ АМН України, ветеринарні свідоцтва: РД-00 № 278532 від 16.05.2013 р., РД-00 № 277664 від 16.09.2013 р., КІ-33 № 042408 від 24.04.2014 р. Лабораторних щурів розміщували в віварії ЗДМУ в акрилових клітках об'ємом 6000 см<sup>3</sup>, в умовах природного освітлення, при вільному доступі до води та їжі, по 4-5 щурів в одній клітці, згідно до рекомендацій Кожем'якіна Ю.М., 2002 [100].

При роботі з експериментальними тваринами дотримувалися біоетики згідно з положеннями «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), положеннями «Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених указом МОЗ України №753 від 12 серпня 1997р., а також «Спільними етичними принципами експериментів над тваринами», затвердженими на I Національному конгресі з біоетики (Київ, 2001р.) та Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Закон від 21 лютого 2006 р. № 3447-IV, редакція від 09 грудня 2015 р., підстава 766-19) [101].

Протокол дослідження погоджено з локальним етичним комітетом (№ 10 від 29.10.2020 р.), порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Усі прилади, які використовувались для дослідження, сертифіковані та проходять щорічну метрологічну експертизу (протокол № 331 від 17.08.2020 р.).

## 2.1 Дизайн та об'єкт дослідження

У експеримент було взято 90 щурів самців лінії Wistar, однаково віку (9-10 місяців), масою  $281,9 \pm 10,7$  г. Піддослідних було розподілено на 6 груп:

- група 1 (К) – контрольна, інтактні щури (15 тварин);
- група 2 (Ф) – 15 щурів з встановленою фотополімерною пломбою, котрі виводились з експерименту по 5 тварин на 2-й, 4-й та 6-й тижні;
- група 3 (Ц) – 15 тварин з встановленою цементною пломбою, котрі виводились з експерименту по 5 тварин на 2-й, 4-й та 6-й тижні;
- група 4 (ЦД) – 15 щурів з модульованим експериментальним цукровим діабетом, котрі виводились з експерименту по 5 тварин на 2-й, 4-й та 6-й тижні;
- група 5 (ЦД+Ф) – 15 тварин з встановленою фотополімерною пломбою на фоні експериментально індукованого цукрового діабету, котрі виводились з експерименту по 5 тварин на 2-й, 4-й та 6-й тижні;
- 6 група (ЦД+Ц) – 15 тварини з встановленою цементною пломбою на фоні цукрового діабету, котрі виводились з експерименту по 5 тварин на 2-й, 4-й та 6-й тижні.

Об'єктом дослідження були обрані верхні щелепи статевозрілих щурів, а саме слизова оболонка ясен і тканини пародонту, які вилучались у щурів експериментальних груп при виведенні їх дослідження по 5 тварин на 2-й, 4-й та 6-й тижні експерименту [102].

У тварин стрептозотоциновий цукровий діабет формували одноразовим внутрішньочеревним введенням стрептозоточину фірми «Sigma» з

розрахунку 50 мг / кг (приготованому на 0,1 М цитратному буфері, рН = 4,5). Формування цукрового діабету протягом 2 тижнів спостерігали за зростанням рівня глюкози в крові. Рівень глюкози вимірювали глюкозооксидазним методом (рис. 2.1). В експеримент вводили тварин з рівнем глюкози понад 14 ммоль/л.



Рисунок 2.1 – Вимірювання глюкозооксидазним методом рівня глюкози крові взятої з хвостової вени у щура контрольної групи

В останній день експерименту тварин з 18-00 позбавляли їжі та наступного дня з 8-00 виводили з експерименту методом одномоментної декапітації під наркозом (тіопентал натрію 120 мг / кг внутрішньочеревно).

Одразу після забою тварин забирали фрагменти верхньої щелепи відмивали від крові у холодному фізіологічному розчині та занурювали в розчин Буена для подальшої гістологічної обробки (декальцінуванням, зневодненням і фіксуванням у парафіновій суміші) (рис. 2.2).



Рисунок 2.2 – Вилучений фрагмент верхньої щелепи щура контрольної групи із тканинами пародонту та верхнім різцем

## 2.2 Методика постановки пломби у тварин

Експериментальним щурам груп 2, 3 (на першу добу після формування та комплектації груп) та 5, 6 (через 3 доби після введення стрептозотоцину) проводили пломбування верхнього правого різця.

Місце препарування (місце розташування майбутньої пломби) вибирали з урахуванням анатомічної будови різців у щурів. Так як на різцях емаль присутня тільки на вестибулярній поверхні зуба, відповідно, штучну порожнину робили на передній поверхні зуба, трохи латерально. Враховуючі велику швидкість росту різців (2,2 мм за тиждень), місце препарування намагалися робити ближче до зубоясневої борозди [103]. Знеболювання проводили під тіопенталовим наркозом (тіопентал натрію 40 мг / кг). Полірували емаль зуба профілактичною пастою «Зіркейт» (Dentsply, США) з метою позбавитися нашарувань органічного і неорганічного походження. Промивали робочу поверхню зуба дистильованою водою з пустера.

Препарували зуб на глибину, приблизно, 1 мм, імітуючи середній карієс за допомогою портативної бормащини і кутового накінецьнику НУП-30М зі швидкістю 30 000 об / хв. твердосплавним бором. Застосовували техніку переривчастого препарування, періодично охолоджуючи зуб дистильованою водою. Сухість і чистоту порожнини здійснювали під візуальним контролем. Проводили тотальне протравлення (кондиціювання) емалі та дентину (рис. 2.3).

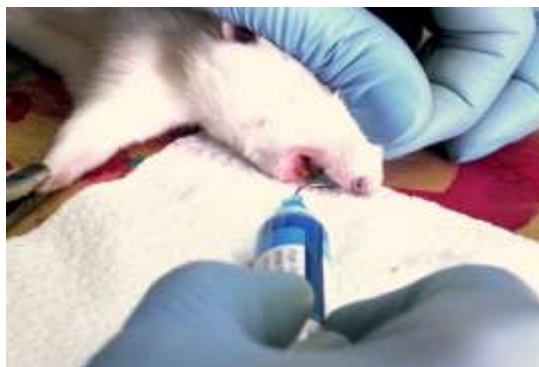


Рисунок 2.3 – Виконання тотального протравлення (кондиціювання) емалі та дентину верхнього правого різця щура контрольної групи



Кондиціювання порожнини виконували 37 % ортофосфорною кислотою (для фотополімерної пломби) і поліакриловою кислотою (для цементної пломби) протягом 30 с. Внаслідок протравлення розчиняється змазаний шар, утворений фрагментами зруйнованих тканин емалі і дентину, слиною, ротовою рідиною, мікрофлорою, що утворився при препаруванні. На поверхні емалі після протравлення утворюється мікрорельєф за рахунок неоднакової просторової орієнтації волокон, що призводить до збільшення площі поверхні ушкодженої і зростанню гідрофільності (до 400 %). Також при протравленні відкриваються дентинні канали з наступним витіканням дентиної рідини та оголенням колагенових волокон. По завершенні кондиціювання кислоту змивали дистильованою водою протягом 30 с. Зуб обережно висушували. В результаті емаль придбала матовий колір, а дентин залишався ледь вологим та «іскристим».

### **2.2.1 Методика постановки фотополімерної пломби**

Пломбування фотополімерною пломбою верхнього правого різця виконували у щурів 2 та 5 груп.

Після попередньої підготовки на поверхню емалі і дентину наносили однокомпонентну адгезивну систему п'ятого покоління «Prime&Bond NT» (Dentsply) на 20-30 с для проникнення в протравлену емаль, розкриття дентинних каналців, демінералізації поверхні дентину, що необхідно для зв'язування з колагеновими волокнами та утворення гібридного шару.

Адгезив висушували струмом повітря, рівномірно розподіляючи по поверхні. Стінки порожнини після цієї процедури мають бути вкриті тонкою блискучою плівкою, що утворюється за рахунок адгезивного матеріалу. Плівка не повинна рухатися під тиском струму повітря. Надалі робили полімеризацію пломбірувального матеріалу світлом активуючою фотополімерною світлодіодною лампою LED-B з джерелом світла синього спектру та довжиною хвилі 420- 480 нм (рис. 2.4).



Рисунок 2.4 – Полімеризація фотополімерної пломби, що встановлена на правому верхньому різці щура контрольної групи, світлом активуючої фотополімерної світлодіодної лампи LED-B

Наступний етап – внесення порції рентгеноконтрасного фотополімера GC Gradia Direct LoFlo (Японія) з наступною пластичною обробкою композитного матеріалу (рис. 2.5).



Рисунок 2.5 – Внесення на поверхню пломби порції рентгеноконтрасного фотополімерного матеріалу GC Gradia Direct LoFlo (Японія)

Наприкінці встановлення пломби робили фінішну полімеризацію композитного матеріалу фотополімерною лампою (рис. 2.6).



Рисунок 2.6 – Фінішна полімерізація фотополімерною лампою композитного матеріалу пломби верхнього правого різця у щура контрольної групи

### 2.2.2 Методика постановки склоіономерної цементної пломби

Пломбування цементною пломбою верхнього правого різця виконували у щурів 3 та 6 груп. Вибір місця встановлення пломби та попередня підготовка правого верхнього різця проводилася за методикою описаною у підрозділі 2.2.

Особливістю склоіономерних цементів є висока біологічна сумісність, значна адгезивна здатність до твердих тканин зуба (за рахунок хелатного з'єднання карбоксилатних груп полімерної молекули кислоти з кальцієм твердих тканин зубів) завдяки зв'язуванню з дентином, навіть без попереднього протравлювання [104].

Після кондиціонування порожнини, було наносено ізоляційний лак Dentin – Protector (Vivadent), з паралельним ретельним дозуванням порошку, рідини, і їх ретельним переміщенням протягом 30-40 с. Період внесення матеріалу повинен займати не більше 1 хв, щоби запобігти твердінню матеріалу. Після постановки пломби проводилось відбирання надлишкового матеріалу і первинна модуляція пломби гнучким диском попередньо змоченим вазеліном. Далі відкрита поверхня пломби ізолювалась протягом 24 год. А після цього її заключне оброблення і полірування (після повного дозрівання цементу), з фінальним нанесенням ізоляційного лаку.

Після виведення щурів з експерименту, вилучення верхньої щелепи, фіксації її у розчині Буену, гістологічної підготовки та декальцінації, виробляли зрізи для оглядової візуалізації встановлених пломб (рис. 2.7).



Примітка. Стрілкою позначене місце встановлення пломби.

Рисунок 2.7 – Візуалізація місця встановлення цементної пломби на правому різці верхнього моляру щура контрольної групи. Фарбування гематоксилін і еозин, Зб. X100.

### 2.3 Методи дослідження

Для реалізації поставленої мети дослідження, а саме визначення реактивності пародонту на різні пломбувальні матеріали на тлі експериментального цукрового діабету, було необхідно у щурів в нормі, при наявності пломбувальних матеріалів, на тлі цукрового діабету і при поєднанні експериментального цукрового діабету і наявності пломбувального матеріалу різного походження, описати особливості будови пародонту; вивчити склад лімфоцитарної популяції в пародонті в нормі і в експериментах; описати топографію, кількість і морфофункціональний стан дендритних клітин; дослідити будову мікроциркуляторного русла пародонту; вивчити хімічний і мікробіологічний компонент біоплівки слизової ясен та дослідити особливості архітектоніки сполучної тканини ясен (глікозаміногліканів, колагенів, фібронектину, ламініну). Для цього було сформовано комплекс методів дослідження, що включав:

- анатомічний (оглядовий) – для описання зовнішнього вигляду пародонту;
- морфометричний;
- мікроскопічний, гістологічний і гістохімічний для вивчення популяцій лімфоцитів, антигенпрезентуючих клітин, елементів архітекtonіки сполучної тканини;
- лектин-гістохімічний;
- гістомікробіологічний, для підрахунку кількості мікробних клітин в біоплівці,
- імуногістохімічний,
- математико-статистичний - для аналізу достовірності кількісних результатів дослідження.

### **2.3.1 Анатомічний (оглядовий) метод дослідження**

Оглядовий метод включав анатомо-гістологічне описання слизової оболонки ротової порожнини у тварин інтактною і експериментальних груп протягом строків спостереження.

### **2.3.2 Морфометричний, мікроскопічний і гістологічний методи**

Для проведення гістологічного дослідження, тканини пародонту і зуби щурів занурювали в рідину Буена на одну добу. Температура фіксації становила +24 °С. Потім біологічні шматочки тканин промивали. Надалі фіксовані тканини проводили через розчини спиртів у висхідних концентраціях етанолу 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 96 %, 100 %-1, 100 %-2, розчинах етанол 100 % + хлороформ 2:1, етанол 100 % + хлороформ 1:1, етанол 100 % + хлороформ 1:2, хлороформ, хлороформ + парапласт (MkCormick, США) 1:3 (t=+37 °С), на 1 годину поміщали в рідкий парапласт (MkCormick, США) (t=+56 °С). Наступним етапом було виготовлення

парафінових блоків. Методика взята з монографії Пирс Э., 1962 [105]. На ротаційному мікроскопі з одного блоку виготовляли 45-50 серійних зрізів Місгом НМ-340Е товщиною 5 мкм (Thermo Scientific, Німеччина).

*Для оглядового морфометричного дослідження* використовували фарбування гематоксиліном і еозіном, ставили ШИК-реакцію з дофарбуванням ядер гематоксиліном Ерліха [106].

*Для вивчення колагенового каркасу* використовували методику за Маллорі – техніка багатобарвного забарвлення зрізів, що дозволяє виявляти волокнисті структури сполучної тканини і ряд інших об'єктів. Ця техніка включає послідовну обробку фуксином, фосфорномолібденовою кислотою і сумішшю анілінового синього, помаранчевого Ж і щавлевої кислоти. В результаті забарвлення колагенові волокна – темно-сині, ядра, еритроцити, еластичні волокна – червоні, амілоїд, гіалін і слиз – блакитні, м'язова тканина – помаранчева, нейроглії – червоно-фіолетова [107]. При описанні волокон сполучної тканини брали до уваги площину гістотопографічного зрізу (горизонтальна, сагітальна чи фронтальна) і особливості будови пародонту щурів [108].

*Для морфометрії волокон, вимірювання діаметру артерій, капілярів і венул* використовували окуляр-мікрометр (МОВ-1-15х) [109].

*Судини гемомікроциркуляторного русла* вивчали безін'єкційним методом імпрегнації азотнокислим сріблом за В.В. Купріяновим [110].

Отримання мікрофотографій гістологічних препаратів здійснювали за допомогою мікроскопа Primo Star з відеосистемою AxioCam 105 color (Carl Zeiss, Німеччина) при збільшенні x100, x400 та x1000 разів. Використовуючи імерсійне збільшення мікроскопа (x1000) підраховували абсолютну кількість лімфоцитів з перерахунком отриманих даних на 1000 мкм<sup>2</sup>, що було прийнято як умовні одиниці площі (уОП) [111-112].

Виявлення та підрахування кількості антигенпрезентуючих клітин проводилося в інтерактивному режимі із розрахуванням на 10000 мкм<sup>2</sup> зрізу.

### **2.3.3 Гістохімічний метод виявлення і диференціювання вуглеводвміщуючих сполук**

Для виявлення глікозаміногліканів препарати забарвлювали альціановим синім за Scott & Dorling з ферментативним контролем і критичними концентраціями електроліту ( $MgCl_2$ ): 0,2 М, 0,6 М, 1,0 М [113]. Комплекс глікозаміногліканів без і після попередньої обробки зрізів тестикулярною гіалуронідазою виявляли альціановим синім при рН 2,6 з критичною концентрацією хлористого магнію 0,2 М. Для диференціювання сульфатованих глікозаміногліканів (хондроїтин-4-сульфата, хондроїтин-6-сульфата, дерматан-сульфата) застосовували забарвлення зрізів розчинами альціанового синього з критичною концентрацією  $MgCl_2$ : 0,6 М і 1,0 М [114]. Урахування результатів забарвлення гістохімічного виявлення глікозаміногліканів проводили напівкількісно: забарвлення альціановим синім: +++ - бірюзова, ++ - блакитна, + - блідо-голуба, 0 - відсутність забарвлення.

### **2.3.4 Гістобактеріологічний метод**

Гістобактеріологічний метод використовувався для дослідження характеру змін мікробіому ротової порожнини щурів експериментальних груп. Для збереження біоплівки при фіксації фрагменту слизової оболонки було обрано гістобактеріологічний метод за Морозовим (1999) з використанням світлової мікроскопії, що дозволяє вивчати пристінкову мікрофлору [115].

Можливість проведення дослідження обумовлена тим, що представники нормальної мікрофлори прикріплені к поверхні рецепторами епітеліальних клітин. Саме через це співтовариство мікроорганізмів є стабільним і представляє собою сталу систему, зруйнувати яку вкрай важко.

З метою оцінки ступеня обсіменіння і взаємовідношень бактерій з поверхнею слизової оболонки ясен для отримання мікробіоти поверхня слизової ясен укривалася шаром агарового гелю з метою попередження відмивання пристінкової мікрофлори під час проводки матеріалу. Дана методика використана для збереження надепітеліального слизу в біоптатах. Попередньо біоптат занурювали в підігрітий у мікрохвильовій печі 1 % агаровий гель, виготовлений на фосфатному буфері рН=7,2-7,4, що дозволяє фіксувати слиз із бактеріями і зберігати в наступному при проводці.

Підготовлені гістологічні препарати фарбували за Грам-Вейгертом. За цією методикою грампозитивні бактерії забарвлюються в темно-синій колір (фіолетовий), а ядра клітин – у червоний. Одночасно забарвлюється і фібрин [116]. Кількість мікроорганізмів у біоплівці підраховували за допомогою морфологічної сітки Глаголева [115]. Результати підрахунків стандартизували – кількість мікроорганізмів на 100 мкм<sup>2</sup>, що було прийнято за умовні одиниці площі.

### 2.3.5 Лектингістохімічний метод

Дослідження розподілу рецепторів до лектинів проводили за допомогою стандартних наборів лектинів НВК «Лектинотест» (м. Львів). Для вивчення вуглеводних біополімерів використовували лектингістохімічний метод з панеллю лектинів представлених у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Використані у роботі лектини, та їх вуглеводна специфічність

Назва та аббревіатура лектину	Специфічний моносахарид	Комплементарний олігосахаридний залишок	Об'єкти ідентифікації
1	2	3	4
Конканавалін А, Con A	Маноза, $\alpha$ DMan > $\alpha$ DGlc	Man( $\alpha$ 1-2)Man( $\alpha$ 1-2)Man у нефукозильованих N-гліканах	V <sub>1</sub> -лімфоцити



Продовження таблиці 2.1			
1	2	3	4
Лектин арахісу, PNA	$\beta$ -D-галактоза, $\beta$ -DGal	DGal( $\beta$ 1-3)GalNAc	PNA <sup>+</sup> -лімфоцити
Лектин виноградного слимака, HPA	N-ацетил-галактозамін, $\alpha$ DGalNAc	GalNAc( $\alpha$ 1-3)GalNAc	Цитотоксичні лімфоцити
Лектин сої, SBA	Галактоза, $\alpha$ DGalNAc > $\beta$ DGalNAc	GalNAc( $\alpha$ 1-3)Gal( $\beta$ 1-3)GalNAc	B <sub>1</sub> -лімфоцити
Лектин сочевиці, LCA	$\alpha$ -D-маноза, ( $\alpha$ DMan > $\alpha$ Cle)	(GlcNAc $\beta$ 1,2)Man $\alpha$ 1,6(GlcNAc $\beta$ 1,2)Man $\alpha$ 1,3)Man $\beta$ 1,4GlcNAc $\beta$ 1,4(Fuca $\alpha$ 1,6)GlcNAc	LCA <sup>+</sup> -антигенпрезентуючі клітини
Лектин ікри окуня, PFA	L-Фукоза, ( $\alpha$ LFuc)	Fuca $\alpha$ 1-2Gal $\beta$ 1-4Glc	колаген III типу

При дослідженні біоплівки використовували лектини арахісу (галактоза), конковаліну А (маноза) та сої (галактоза). Для виявлення B<sub>1</sub>-лімфоцитів використовували подвійну мітку, тобто кон'югацію лектину сої і лектину конконоваліну А з пероксидазою хрону. Рецептори до конконоваліну А на B<sub>1</sub>-лімфоцитах виявляються за допомогою бензидинової мітки, а рецептори до сої візуалізуються  $\alpha$ -нафтолом, з'єднаним з метиленовим зеленим. Зрізи занурювали у гліцерин-желатин. За ідентифікацію B<sub>1</sub>-лімфоцитів отримано патент на корисну модель [117]. Для виявлення колагену III типу ставили реакцію до лектину окуня після кислотного гідролізу [118].

Ідентифікацію популяцій лімфоцитів та характер їх розподілу проводили із застосуванням лектинів арахісу, сочевиці і сої (PNA<sup>+</sup>, SBA<sup>+</sup>) за методикою Луцик А.Д. з використанням стандартних наборів "Лектины" [119-122]. Попередню обробку зрізів проводили кон'югатом лектин-пероксидаза хрону протягом 2 годин при кімнатній температурі в темряві після попередньої інактивації ендогенної пероксидази. Негативний контроль інкубували у присутності 0,5 - 1,0 ммоль/л відповідного вуглеводу-інгібітору, для цього виключали з схеми обробки препаратів одним із

компонентів (лектин, діамінобензидин або пероксидазу хрину). Іншим способом інкубацію з лектинами проводили після попередньої обробки гістологічних зрізів 1 % розчином НІО4 протягом 30 хв., що викликало окислення глікокон'югатів. Лектингістохімічну реакцію розцінювали як позитивну за наявністю бензидинової мітки на поверхні цитоплазматичної мембрани клітини. Отримані гістологічні зрізи аналізували та робили мікрофотографії на мікроскопі Primo Star з відеосистемою Axіосam 105 color (Carl Zeiss, Німеччина). Інтенсивність лектин-рецепторної реакції оцінювали напівкількісним методом за забарвленням препаратів (+++ – сильна реакція (коричневий колір), ++ – помірна реакція (жовто-коричневий колір), + – слабка реакція (світло-коричневий колір), 0 – відсутність реакції. Напівпроміжні відтінки кольорів оцінювались відповідно: ++/+++, +/+++, тощо). Активність пероксидази хрону, що обумовлювала локалізацію лектинів з глікокон'югатами визначали за коричневим кольором продукту окислювальної полімеризації 3,3'діамінобензидину [119].

### **2.3.6 Імуногістохімічний метод**

Для вивчення CD5<sup>+</sup>-, CD20<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup> рецепторів лімфоцитів використовували стандартні набори моноклональних антимишачих антитіл виробництва Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Дана методика проводилася відповідно до протоколу набору.

### **2.3.7 Статистичний метод**

В експерименті було задіяні 80 тварин. Така кількість білих щурів була вибрана спираючись на Біоетичну концепцію «3 R», що до раціонального використання чисельності тварин в експерименті для отримання необхідного статистично достовірного результату. Обробку отриманих кількісних результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики. Для

перевірки статистичної версії розподілу ознак використовували W-критерій Шапіро-Уїлка. Дані надавалися у вигляді  $M \pm m$  (середнє арифметичне і стандартна помилка середнього).

Статистичну обробку отриманих числових результатів проводили на персональному комп'ютері з операційною системою Windows 10 за допомогою методів варіаційної статистики з використанням ліцензійної програми «Statistica» (TIBCO Software Inc., №JPZ804I382130ARCN10J).

Достовірність відмінності між незалежними вибірками значень оцінювали з використанням t-критерію Стьюдента. Для аналізу кореляційних зв'язків використовували коефіцієнт кореляції Пірсона. Достовірними вважали відмінності при  $p < 0,05$ . [123].

Матеріали розділу відображені в статтях та тезах [124-125].

**РОЗДІЛ 3**  
**ОСОБЛИВОСТІ ФІБРИЛО-АРХІТЕКТОНІКИ М'ЯКИХ**  
**ТКАНИН ПАРОДОНТУ І БУДОВИ МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО**  
**РУСЛА ВЛАСНОЇ ПЛАСТИНКИ ЯСЕН ЩУРІВ**  
**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ГРУП**

Пародонт – це комплекс тканин оточуючих зуб і пов'язаних між собою поняттям «опорно-утримуючий апарат зуба». До м'яких тканин пародонту входять такі волокнисті структури як епітелій з власною пластинкою ясен і періодонт. Єдність цього комплексу має анатомо-топографічне підґрунтя завдяки тому, що волокнисті сполучнотканинні структури ясен влітаються в періодонт, а останні, в свою чергу, у кісткову тканину стінки зубної альвеоли і цементу кореня [126]. З огляду на те, що слизова оболонка ясен постійно функціонує в умовах впливу різних за походженням фізико-хімічних та мікробіологічних чинників, дослідження гісто-топографічних взаємин волокнистих структур м'яких тканин пародонту є інформативним і актуальним, особливо з урахуванням їх біомеханічних особливостей. Більше того, для ширшого, системного розуміння локальних змін при впливах різних етіопатогенетичних чинників слід не тільки досліджувати пружно-еластичні властивості м'яких тканин пародонту, але і визначати стан адгезивних білків, а саме фібронектину і лімініну. Останні є перспективними біомаркерами розпаду тканин, які можна досліджувати у пацієнтів в ясенній рідині, що широко використовується вже не тільки в експериментальній медицині, а і в практичній стоматології [127].

**3.1 Особливості фібрило-архітектоніки м'яких тканин пародонту щурів експериментальних груп**

При гістологічному дослідженні препаратів у *щурів контрольної групи* встановлено, що зубо-ясневі волокна приєднуються до цементу нижче

епітелію прикріплення. Від вказаного місця прикріплення в сагітальній площині волокна виходять віялоподібно. При забарвленні за Маллорі вони мають темно-синій колір (рис. 3.1).

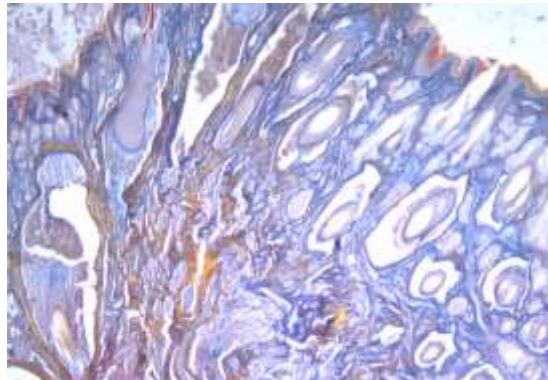


Рисунок 3.1 – Розподіл колагенових волокон у пародонті щурів контрольної групи. Фарбування за Маллорі, зб. х 200

Вздовж волокон розташовуються поодинокі червоні волоконця, товщиною не більше 1 мкм, які ідентифікуються, як еластичні волокна (див. рис. 3.1).

З більш глибокого сітчастого шару власної пластинки слизової оболонки ясен щурів до епітелію надходять пучки колагенових волокон, які розташовані вертикально.

Наступна група волокон, що розташовані перпендикулярно до епітелію в сагітальній площині, називається радіальними. Радіальні волокна, що орієнтуються вздовж епітелію прикріплення мають прямолінійний але переривчастий характер. Нагадуючи за формою петлю вони досягають епітелію прикріплення. Ці колагенові волокна, що знаходяться між епітеліальними тяжами, створюють малюнок петлі в сосочковому шарі, розщеплюючись на тонкі гілочки. Радіальні волокна, які спрямовані від вільної частини ясен до переходу у фіксовану частину, стають більш звивистими, їх супроводжує незначна кількість еластичних волоконців. Пучки радіальних волокон проходять з поодинокими еластичними волокнами, спрямовані до надкисниці альвеолярного відростку де скорочуються і їх товщина зменшується (табл. 3.1).

Анатомічний (оглядовий) метод показав, що у щурів контрольної групи зуб колоподібно оточується циркулярними колагеновими волокнами. В сагітальній площині вони мають форму сегмента кола і пронизують радіальні пучки, між ними виявляються поодинокі еластичні волоконця. Детальніше циркулярні волокна можливо описати на горизонтальному зрізі. У тварин контрольної групи їх структура найбільш цілісна (див. табл. 3.1).

Таблиця 3.1 – Характеристика товщини (лінійного розміру) колагенових утворень м'яких тканин пародонту щурів експериментальних груп, фарбування за Маллорі ( $M \pm m$ )

Групи	Тиждень	Орієнтування волокон					
		Вертикальні, мкм	Сагітальні, зубо-ясневі волоконна, мкм	Радіальні, мкм			Циркулярні, мкм
				вздовж епітелію прикріплення	спрямовані від вільної частини ясен до переходу у фіксовану частину	альвеолярно-ясневі - які спрямовані до надкисниці альвеолярного відростку	
1	2	3	4	5	6	7	8
К		2,831±0,142	4,323±0,298	1,945±0,102	2,315±0,184	3,511±0,156	5,608±0,227
Ф	2-й	2,753±0,198	3,978±0,227	2,012±0,1,85	2,332±0,150	3,809±0,256	5,431±0,173
	4-й	3,045±0,258	4,926±0,265	2,045±0,151	2,187±0,210	3,729±0,211	5,521±0,234
	6-й	2,982±0,261	5,004±0,255	2,011±0,226	2,23±0,161	3,802±0,164	5,474±0,189
Ц	2-й	2,942±0,202	4,623±0,195 <sup>6</sup>	1,997±0,125	2,202±0,162	3,728±0,131	5,332±0,187
	4-й	3,129±0,234	4,568±0,198	1,893±0,202	2,251±0,211	3,615±0,152	5,27±0,247
	6-й	3,096±0,265	4,615±0,258	1,925±0,156	2,147±0,155	3,581±0,129	5,345±0,255
ЦД	2-й	2,676±0,297	4,092±0,261	1,954±0,208	2,152±0,197	3,462±0,157	5,138±0,197
	4-й	2,493±0,178	3,697±0,287	1,791±0,184	1,995±0,160	3,276±0,169	4,715±0,192 <sup>1</sup>
	6-й	2,328±0,190 <sup>1</sup>	3,275±0,288 <sup>1</sup>	1,629±0,112 <sup>1</sup>	1,762±0,149 <sup>1</sup>	2,982±0,156 <sup>1</sup>	4,587±0,171 <sup>1</sup>

Продовження таблиці 3.1							
1	2	3	4	5	6	7	8
ЦД+Ф	2-й	2,555±0,291	4,544±0,298	1,96±0,201	2,167±0,129	3,398±0,182	5,226±0,250
	4-й	2,321±0,198 <sup>1,4</sup>	3,721±0,269 <sup>4</sup>	1,788±0,204	1,947±0,136	3,155±0,234	4,641±0,162 <sup>1,4</sup>
	6-й	2,288±0,154 <sup>1,4</sup>	3,306±0,262 <sup>1,4</sup>	1,548±0,138 <sup>1</sup>	1,782±0,214 <sup>1</sup>	2,999±0,149 <sup>1,4</sup>	4,482±0,196 <sup>1,4</sup>
ЦД+Ц	2-й	2,498±0,186	4,243±0,199	2,039±0,186	2,049±0,129	3,441±0,145	5,2,44±0,228
	4-й	2,299±0,217 <sup>1,5</sup>	3,850±0,193 <sup>5</sup>	1,702±0,125	1,839±0,138 <sup>1</sup>	3,205±0,166	4,856±0,231 <sup>1</sup>
	6-й	2,248±0,149 <sup>1,5</sup>	3,532±0,193 <sup>1,5</sup>	1,599±0,133 <sup>1</sup>	1,759±0,172 <sup>1</sup>	2,973±0,192 <sup>1,5</sup>	4,599±0,169 <sup>1,5</sup>

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

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД – достовірних відмінностей не виявлено.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД – достовірних відмінностей не виявлено.

Примітка 4. ( <sup>4</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ф.

Примітка 5. ( <sup>5</sup> ) – достовірна різниця показників Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.

Примітка 6. ( <sup>6</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи Ц.

Примітка 7. ( <sup>7</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц – достовірних відмінностей не виявлено.



Використовуючи лектингістохімічний метод за допомогою лектину окуня (PFA) було проведено ідентифікацію та досліджено характер розподілу колагену III типу. У щурів контрольної групи він виявлявся по всій товщі власної пластинки (рис. 3.2).

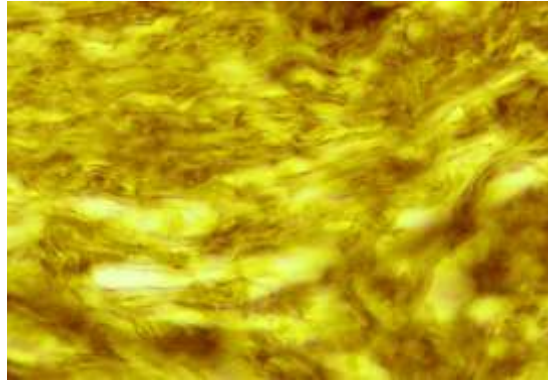


Рисунок 3.2 – PFA<sup>+</sup>- волокна колагену III типу у власній пластинці ясен щурів контрольної групи. Лектингістохімічний метод, зб. x 1000

Вздовж періодонту PFA<sup>+</sup>-волокна розташовані перпендикулярно до цементу зуба, входять до зв'язуючого апарату зуба, їх розподіл мав переважно прямолінійний характер. Інтенсивність накопичення бензидинових часточок була максимальна, тому волокна мали коричневий колір, причому накопичення вуглеводного залишку – фукози було рівномірним по всій довжині волокон і реакція була оцінена на +++ (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Інтенсивність накопичення колагену III типу в м'яких тканинах пародонту, лектингістохімічний метод

Групи	Тиждень	PFA <sup>+</sup> -волокна колагену III типу
1	2	3
К		+++
Ф	2-й	+++
	4-й	+++
	6-й	++

Продовження таблиці 3.2		
1	2	3
Ц	2-й	+++
	4-й	+++
	6-й	+++
ЦД	2-й	+++
	4-й	+++ / ++
	6-й	++ / +
ЦД+Ф	2-й	+++
	4-й	+++
	6-й	++
ЦД+Ц	2-й	+++
	4-й	+++
	6-й	++

Проведене дослідження та попередній аналіз показав, що у щурів контрольної групи найтовщими колагеновими волокнами виявленими фарбуванням за Маллорі були циркулярні, а найбільш розгалуженими радіальні за рахунок різноспрямованих волокон, що входять у цю групу фібрилярних волокон. Еластичні волокна не характеризувались якоюсь особливістю, вони поодинокі зустрічались між колагеновими волокнами, мали цілісний характер і класичне червоне фарбування.

Лектингістохімічним методом було підтверджені, що це саме колагенові волокна, що ідентифікувались за Маллорі. PFA<sup>+</sup>-волокна утворюють сітчасту структуру, яка густіша в сосочковому шарі, навколо епітелію прикріплення та кореня зубу, навколо альвеолярного відростка.

Візуальний аналіз гістологічних зрізів тканин пародонту *щурів з фотополімерною пломбою* показав, що вертикальні волокна статистично не відрізнялись на всіх строках від контролю, але оглядово було виявлено, що наближаючись до сосочкового шару вони віялоподібно розщеплюються і

проникають у нього. В багатьох з них втрачається пучкова організація, деякі волокна мають деструктурований вигляд, тобто формують більш пухку структуру. Зубо-ясневі волокна, візуально, ненабагато менше, ніж у тварин інтактної групи, що підтверджується відсутністю достовірних змін порівняно до контролю (див. табл.3.1).

Незначно візуально відрізнялись і радіальні волокна, які були спрямовані паралельно епітелію прикріплення, вони мали переривчастий характер і за формою нагадували петлю. Волокна, які накопичуються серед епітеліальних тяжів, так само, як і у тварин контрольної групи, утворюють петлі в сосочковому шарі. Циркулярні волокна набувають фрагментарності.

В сітчастому шарі волокна переривчасті і розпушені, але зберігають контурованість. Радіальні волокна, котрі спрямовані від вільної частини ясен до переходу у фіксовану частину також більш стоншені і більш звивисті. Пучки радіальних волокон, спрямованих до надкисниці альвеолярного відростка скорочуються, вони більш прозорі, переривчасті, неоднорідні, але товщина достовірно не змінювалась порівняно до контролю. Розміри циркулярних волокон також статистично не відрізнялись від контролю, їх хід колоподібний, пронизуючи радіальні пучки в сагітальній площині. Еластичні волокна візуально розташовані так само як і у контролі, лінійно їх розміри не відрізняються від контролю (див. табл. 3.1).

В описаній групі щурів з встановленим фотополімерним пломбувальним матеріалом спостерігалось незначне зниження фібрилогенезу на 6-му тижні експерименту, що було виявлено завдяки лектингістохімічному методу і оцінювано помірною реакцією з лектинами окуня (++) (див. табл. 3.2).

Гістологічним методом у *тварин з цементною пломбою* при огляді зрізів парадонту було встановлено, що вертикальні волокна були такі самі як в контролі, але спостерігалася тенденція до їх збільшення (див. табл. 3.1).

Зубо-ясневі і радіальні волокна візуально і статистично не відрізнялись від контрольної групи. Циркулярні волокна, візуально за товщиною

відповідали контролю, як в сосочковому так і в сітчастому шарі (див. табл. 3.1). Так само як і в контролі розшаровувались на війчасту структуру. Усі колагенові волокна виявлені за Маллорі супроводжуються поодинокими тонкими еластичними волокнами.

У тварин з цементною пломбою інтенсивність накопичення колагену III типу, в м'яких тканинах пародонту була така сама як у тварин контрольної групи (див. табл. 3.2).

Таким чином у щурів з фотополімерною і цементною пломбами порівняно до контрольної групи достовірних відмінностей за досліджуваними показниками на різних строках виявлено не було при цьому гісто-топографічна характеристика майже не відрізнялася порівняно до контролю. Необхідно відмітити, що в групах тварин із встановленими пломбами, так само як і в контролі, усі групи колагенових фібрилярних утворювань були добре розгалужені з поєднанням поодиноких тонких еластичних волокон. Цікавою знахідкою було виявлене достовірно більших на 16,2 % зубо-ясневих волокон колагену у щурів з цементною пломбою порівняно до фотополімерної на 2-у тижні експерименту. Усі інші показники порівняння були не достовірні.

Лектингістохімічною знахідкою було помірне зниження фібрилогенезу на 6-у тижні експерименту у щурів з фотополімерною пломбою, на тлі відсутності змін у волокнах PFA+-колагену III типу порівняно до контролю. Таким чином вимальовується картина незначних змін фіброархітектоніки у обох групах з пломбувальним матеріалом.

*В групі щурів зі сформованим експериментальним цукровим діабетом* через 2-а тижні було визначено, що у них, як і в групі контрольних тварин, вертикальні і зубо-ясневі волокна топографічно і статистично не відрізнялись. Від вказаного місця прикріплення в сагітальній площині волокна виходили віялоподібно. Радіальні і циркулярні волокна візуально були більш пухкі, звивисті і розгалужені, але статистичної відмінності порівняно до контролю у їх товщині виявлено не було. Еластичні волокна

виявлялися поодинокі і тоненькі, як і у щурів контрольної групи, але на відміну вони мали переривчастий характер (див. табл. 3.1).

На 4-й тиждень після сформованого діабету зміни волокон були аналогічними до попереднього строку експерименту і контролю. Але на відміну від попереднього строку колагенові волокна, що були виявлені фарбуванням за Маллорі, мали більш згрубілий, частково вузловий характер з підвищеною волокнистістю. Еластичні волокна були аналогічні попередньому строку, але більш фрагментовані з менш чіткими контурами. Волокна в сосочковому шарі більш деконтуровані, в порівнянні з 2-м тижнем спостереження і тваринами контрольної групи. Волокна в сосочковому шарі практично не ідентифікувалися, тоненькі гілочки волокон не виявлялися. Цікавим було встановлення достовірно тонкіших на 15,9 % циркулярних волокон порівняно до контролю (див. табл. 3.1).

Через 6-ть тижнів після сформованого експериментального діабету було виявлено, що більшість волокон були переривчасті, сильно розволокненні, інколи занадто деконтуровані. Цікавим було виявлено статистично відмінні показники товщини усіх груп колагенових волокон. При цьому вертикальні і зубо-ясені волокна були меншими за контроль на 17,8 % і 24,2 % відповідно. В радіальних волокнах загальне зменшення їх товщини також зберігалось, а саме: волокна, що йдуть вздовж епітелію прикріплення були менші на 16,3 %, волокна, що спрямовані від вільної частини ясен до переходу у фіксовану частину тонкіше на 23,9 %, а альвеолярно-ясневі – на 15,0 %. Циркулярні волокна не стали виключенням і також були достовірно меншими за контроль на 18,2 % (див. табл. 3.1). Еластичні червоні волокна виявлялися фрагментовано, але їх гістотопографія і товщина були візуально не змінені порівняно до попередніх строків спостереження і контролю.

Інтенсивність накопичення PFA<sup>+</sup>-колагену III типу у тварин зі сформованим експериментальним цукровим діабетом з 2-о по 6-й тиждень спостереження зменшувалась, що свідчить про порушення фібрилогенезу (див. табл. 3.2).

Аналізуючи отриманні результати можна зробити проміжний висновок: формування та прогресування експериментального цукрового діабету призвело до зниження товщини колагенових волокон усіх груп порівняно до контролю. Виразність зменшень та перебудов мала строкозалежність, через це найвиразніші зміни були саме на 6-у тижні експерименту. При цьому, сумуючи такі ознаки, як значне стоншення, переривчастість, звивистість колагенових волокон, наявність поодиноких, тоненьких еластичних волокон і зменшення інтенсивності накопичення лектинової мітки до PFA<sup>+</sup>-колагену III типу, можна стверджувати про прогресуюче значне порушення фібрило-архітектоніки тканин пародонту при сформованому цукровому діабеті, що, ймовірно, і збільшує рухливість зубів.

*У щурів із поєднанням цукрового діабету і фотополімерної пломби* на 2-й тиждень експерименту статистично достовірних відмінностей у колагенових волокнах виявлено не було, як порівняно до контролю, так і порівняно до щурів з фотополімерною пробою і щурів з «чистим» ЦД аналогічного строку. Гістотопографічна характеристика була аналогічна 2-о тижневим щурам з ЦД. Візуально у власній пластинці еластичні червоних волокон були коротші і тонкіші за аналогічну групу з ЦД.

На 4-й тиждень спостережень характеристика волокон змінювалась статистично достовірно, але візуально особливостей гістотопографічної характеристики колагенових волокон порівняно до попереднього строку і щурів з ЦД виявлено не було. Вертикальні волокна, що йдуть з більш глибокого сітчастого шару власної пластинки слизової оболонки ясен щурів до епітелію були достовірно тонші за контроль на 18,0 %. Зубо-ясневі волокна не доходили до цементу, але достовірних відмінностей до контролю виявлено не було. Радіальні волокна, що доходять до епітелію прикріплення розпушуються, їх контури не чіткі. Циркулярні волокна були достовірно менші за контроль на 15,9 %. Еластичні волокна практично не виявлялися навколо епітелію прикріплення (див. табл. 3.1). Статистичної достовірної різниці між 4-м тижнем у групі ЦД з пломбою та у щурів з діабетом без

пломби аналогічного строку виявлено не було. Але у порівнянні цього строку з щурами з фотополімерною пломбою без діабету були встановлені тонші вертикальні, зубо-ясенні і циркулярні колагенові волокна на 23,8 %, 24,5 %, 15,9 % відповідно (див. табл. 3.1).

На 6-у тижні спостереження при сформованому цукровому діабеті і наявності фотополімерної пломби колагенові волокна погано контурувалися, були фрагментовані, мали пухкий характер та були статистично меншими за контроль. Вертикальні волокна були менші на 19,2 %, зубо-ясенні – на 23,5 %. Радіальні волокна, що йдуть вздовж епітелію прикріплення виявилися тоншими за контроль на 20,4 %, ті, що спрямовані від вільної частини ясен до переходу у фіксовану частину – на 23,0 %, а альвеолярно-ясеневі – на 14,6 %. Циркулярні волокна були тонші за контроль на 20,0 %. Еластичні волокна диференціювалися окремими тоненькими ниточками (див. табл. 3.1).

Інтенсивність накопичення колагену III типу в м'яких тканинах пародонту у тварин з експериментальним цукровим діабетом і наявністю фотополімерної пломби характеризувалася зменшенням на 6 тижні, що характеризувалося помірною лектингістохімічною реакцією (++) (рис. 3.2, див. табл. 3.2).



Рисунок 3.2 – Виявлення PFA<sup>+</sup>-волокон колагену III типу у власній пластинці ясен щурів при експериментальному цукровому діабеті і наявності фотополімерної пломби на 2-й тиждень спостережень. Лектингістохімічний метод, зб. х 400

*В групі щурів з експериментальним цукровим діабетом і наявністю цементної пломби* на 2-й тиждень після сформованого діабету достовірних відмінностей товщини волокон порівняно до контролю, групи з цементною пломбою, групи з ЦД і при поєднанні діабету і фотополімерної пломби виявлено не було (див. табл.3.1). Гісто-архітектоніка була аналогічною 2-х тижневого строку щурів з цукровим діабетом і щурів з ЦД і фотополімерною пломбою (рис. 3.6).

На 4-й тиждень спостережень була відмічена зміна характеристики волокон. Достовірно тонші за контроль були вертикальні, радіальні волокна, що спрямовані від вільної частини ясен до переходу у фіксовану частину і циркулярні колагенові волокна, перші на 18,8 %, другі на 20,6 %, тоді як останні 13,2 % (див. табл. 3.1).

Достовірних відмінностей в порівнянні з групою з цукровим діабетом аналогічного строку виявлено не було, а при порівнянні з цементною пломбою без діабету виявлено достовірно тонші волокна на 26,5 % – вертикальних, 15,7 % – зубо-ясенних. В порівнянні з фотополімерною пломбою встановлено на тлі цукрового діабету достовірних відмінностей також не виявлено (див. табл. 3.1).

На 6-й тиждень спостережень від сформованого експериментального цукрового діабету більшість волокон синього кольору за Маллорі мали розволоknений переривчастий характер. Еластичні червоні волокна виявлялися фрагментовано. Товщина усіх колагенових волокон була достовірно менша за контроль. Так вертикальні волокна були менші на 20,6 %, зубо-ясенні – на 18,3 %, радіальні, що розташовані вдовж епітелію прикріплення – на 17,8 %, ті, що спрямовані від вільної частини ясен до переходу у фіксовану частину – на 24,0 %, альвеолярно-ясневі – на 15,3 %, а циркулярні – на 18,0 % (див. табл. 3.1).

Достовірних відмінностей в порівнянні з групою з цукровим діабетом аналогічного строку(6-й тиждень) виявлено не було, а при порівнянні з цементною пломбою виявлено достовірне стоншення волокон на



27,4 % – вертикальних, на 23,5 % – зубо-ясенних, на 17 % – альвеолярно-ясенних радіальних і на 14 % – циркулярних. В порівнянні з фотополімерною пломбою встановленою на тлі цукрового діабету достовірних відмінностей також не виявлено (див. табл. 3.1).

При наявності експериментального цукрового діабету і цементної пломби колаген III типу має чіткі контури в сітчастому шарі власної пластинки, в структурі радіальних волокон, в сосочковому шарі. Зміни виявлені в структурі фібрилової архітектоники відповідають змінам при експериментальному цукровому діабеті. Волокна колагену III типу значно деформовані в сосочковому шарі і навколо епітелію прикріплення, а інтенсивність накопичення лектинової мітки зменшується на 6-у тижні, що характеризується помірною лектингістохімічною реакцією (++) (див. табл. 3.2).

Таким чином, проведений аналіз показав, що при поєднанні експериментального цукрового діабету і наявності різних пломбувальних матеріалів спільним було значне та прогресуюче з часом достовірне стоншення колагенових волокон порівняно до контролю, що досягало найзначніших змін на 6-у тижні спостереження. Слід відмітити, що еластичні волокна мали переривистий та звивистий характер на всіх 3-х термінах спостереження (2-у, 4-у та 6-у тижнях). Якщо порівнювати пломбувальні матеріали встановлені на тлі цукрового діабету то між ними достовірної різниці за показниками товщини різних груп колагенових волокон не було, так само як і не було таких відмінностей порівняно до групи з цукровим діабетом. Якщо порівнювати значення досліджуваних параметрів щурів з фотополімерними пломбами і щурів з цими пломбами на тлі ЦД, то достовірне стоншення волокон спостерігалось вже на 4-у тижні спостереження, і досягали максимального зменшення на 6-у. Така сама картина була відмічена при порівнянні цементних пломб і цих самих пломб на тлі ЦД.

Волокна PFA<sup>+</sup> - колагену III типу при поєднанні ЦД та встановлення пломб характеризувалися розщепленням, переривчастістю, були подрібнені на окремі фрагменти, особливо в сосочковому шарі. Колагеновий каркас був дезорганізованим та фрагментованим, особливо на 6-у тиждні спостереження від розвитку експериментального цукрового діабету. Дані показники є ознакою грубого порушення фібрілярного каркасу тканини пародонту.

### **3.2 Особливості розподілу адгезивних білків у м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп**

Адгезивні білки пов'язують різні складові компоненти міжклітинного матриксу. Найбільш важливими представниками є ламінін і фібронектин – поліфункціональні білки, що забезпечують фіксацію клітин в міжклітинному матриксі за рахунок взаємодії з мембранними рецепторами.

Фібронектин входить до складу базальної мембрани слизової ясен та власної пластинки [128.]. Фібронектин – це димер поліпептидних ланцюгів (250 кДа), що пов'язані дисульфідними зв'язками [129]. У фібронектину є п'ять доменів, що зв'язуються з с інтегрином клітин, колагеном, фібрином, гепарином та іншими компонентами клітинного матриксу [130]. Відомо, що вуглеводна частка фібронектину впливає на його конформацію, афінність до субстратів та захищає молекули від гідролізу, а через її зміни, що характерні для різних патологічних процесів, змінюється і функціональна активність самого фібронектину [131].

Ламінін – це глікопротеїн, що має широку поширеність у базальній мембрані епітелію ясен, та складається з 3 поліпептидних ланцюгів [132]. Ламінін містить кілька глобулярних і стрижневих доменів, з центрами зв'язування для компонентів базальних мембран: колагену IV типу, нідогену, фібронектину клітин, тим самим набуваючи здатності до модуляції клітинної поведінки. Він регулює зростання, диференціювання, рухливість, морфологію клітин [133].

У тварин контрольної групи фібронетин, що виявляється лектином арахісу, представлений тонкими фібрилярними структурами, що рівномірно розподілені товщею власної пластинки із переважанням у сітчастому шарі. PNA-фібронектинові волокна розташовані в трьох координатних системах. Інтенсивність накопичення бензидинових часточок виявлялася на +++ (табл. 3.3).

Таблиця 3.3 – Інтенсивність накопичення фібронектину і ламініну в м'яких тканинах пародонту щурів експериментальних груп, лектингістохімічний метод

Групи	Тиждень	PNA <sup>+</sup> -фібронектинових волокон	PFA <sup>+</sup> -волокон ламініну
К		+++	++
Ф	2-й	+++	+++
	4-й	++	+++
	6-й	++	+
Ц	2-й	+++	+++
	4-й	+++	+++
	6-й	+++	+++
ЦД	2-й	++	++
	4-й	++/+	++/+
	6-й	++/+	+
ЦД+Ф	2-й	++	++
	4-й	++	++
	6-й	++	+
ЦД+Ц	2-й	++	++
	4-й	++	++
	6-й	++	++

PFA<sup>+</sup>-волокна ламініну у вигляді коротких лусочок виявлялися, переважно, в структурі пародонту, а їх інтенсивність реакції оцінювалася як +++ (див. табл. 3.3.).

**У щурів з фотополімерною пломбою** процес синтезу фібрoneктину і ламініну починає зменшуватися на 6-й тиждень спостереження і тому волокна мали більш світло коричневий колір, а інтенсивність накопичення міток строкозалежно знижувалася до (++) для 2-о і (+) на 6-у тижні експерименту (див. табл. 3.3).

**У щурів з цементною пломбою** інтенсивність накопичення фібрoneктину і ламініну в м'яких тканинах пародонту не відрізнялась від показників контролю (див. табл. 3.3).

**При експериментальному цукровому діабеті** інтенсивність накопичення лектинів до фібрoneктину і ламініну, мали негативні, строкозалежні відмінності від контрольною групи (див. табл.3.3).

**У щурів з експериментальним цукровим діабетом і з наявністю фотополімерної пломби** інтенсивність накопичення фібрoneктину в тканинах пародонту протягом спостереження практично не відрізнялася від показників тварин групи з цукровим діабетом. Порівняно з контролем була слабшою на всіх 3-х строках (++)). При порівнянні з фотополімерною пломбою без діабету відмінність у інтенсивності накопичення була лише на 2-у тижні спостереження. У випадку з ламініном інтенсивність зв'язування була меча за контроль лише на 6-у тижні і майже не змінною порівняно до цукрового діабету. В той чай, як при порівнянні з групою з фотополімерною пломбою інтенсивність накопичення мітки зменшувалась, а характер зменшення був обумовлений строком спостереження. (див. табл. 3.3)

**У щурів з експериментальним цукровим діабетом і з наявністю цементної пломби** інтенсивність накопичення фібрoneктину в тканинах пародонту протягом спостереження показала зниження зв'язування порівняно до контролю і щурів з цементною пломбою без діабету. В той час як при порівнянні з групою з цукровим діабетом відмінностей зафіксовано не було. Виявлення інтенсивності накопичення лектину до PFA<sup>+</sup>-волокон ламініну дозволило оцінити відсутність змін цього показника порівняно до контролю. У порівнянні з цукровим діабетом виявлено незначне підвищення

інтенсивності накопичення ламініну на 6-у тижні, а при порівнянні з цементною пломбою без діабету незначне зменшення – встановлена помірна інтенсивність (++) проти (+++) (див. табл.3.3).

При порівнянні інтенсивності накопичення лектинів до фібронектину і ламініну у щурів з фотополімерною пломбою на тлі цукрового діабету і цементної пломби на тлі ЦД за показником фібронектину відмінності не були ідентифіковані, в той час як показник накопичення ламініну у щурів з цементною пломбою на тлі ЦД був вищим за показник фотополімерної пломби з ЦД, що вказує на менші порушення синтез полімерів (рис. 3.10).

Таким чином, загальним результатом лектингістохімічного дослідження фібронектину і ламініну при порівнянні експериментальних груп стали виявлені закономірності порушень синтезу адгезивних білків у м'яких тканинах пародонту. Показник інтенсивності накопичення лектинової мітки фібронектину був меншим порівняно до контролю на 4-у і 6-у тижнях спостереження у щурів з фотополімерною пломбою, цукровим діабетом і обома видами пломбувального матеріалу на тлі діабету, що відображає наявність перебудов базальної мембрани епітелію і власної пластинки ясен і характеризує дезінтеграцію їх структури. Значні зміни накопичення мітки до ламініну, що виявлені на 4-у і 6-у тижнях у щурів з цукровим діабетом, а також на 6-у тижні у щурів з фотополімерною пломбою на тлі цукрового діабету, свідчать про значні дезінтеграційні структурні зміни базальної мембрани, через це – зменшення здатності м'яких тканин пародонту у вищеперерахованих групах до протидії жувальному навантаженню – тобто виявлені ознаки порушення тканинної напруги.

### **3.3 Особливості будови мікроциркуляторного русла власної пластинки ясен щурів експериментальних груп**

Власну пластинку слизової оболонки ясен щурів поділяють на сосочковий шар вільної частини та сітчастий шар на рівні нижньої треті

ясенної борозни, що переходить в сполучну тканину пародонту. Форма капілярних петель поверхневої сітки вільної частини ясен зумовлена формою сосочків, а їх численність – об'ємом сосочків [134].

*У тварин контрольної групи* цифрові показники артеріол та капілярів в сосочковому та сітчастому шарі власної пластинці представлені в таблиці 3.4 та рисунку 3.3.

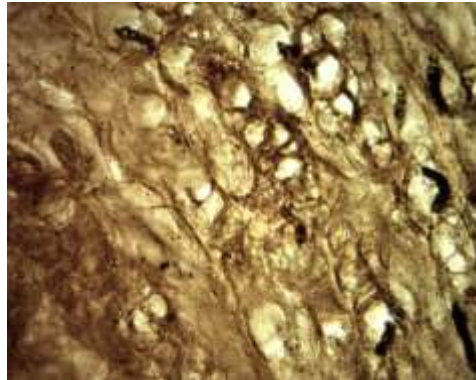


Рисунок 3.3 – Дослідження судин мікроциркуляторного русла в м'яких тканинах пародонту контрольних щурів. Імпрегнація за Купріяновим зб. x1000

Таблиця 3.4 – Показники мікроциркуляторного русла власної пластинки ясен щурів експериментальних груп  
( $M \pm m$ )

Групи	Тиждень	Діаметр, мкм					
		в сосочкову шарі			сітчастому шарі		
		Артеріол	капілярів	венул	артеріол	капілярів	венул
1	2	3	4	5	6	7	8
К		1,331±0,119	7,42±0,58	16,96±0,72	10,38±0,70	7,96±0,77	21,65±1,02
Ф	2-й	1,148±0,092	5,6±1,04	17,8±1,58	8,52±1,23	6,60±1,15	6,84±0,85 <sup>1</sup>
	4-й	0,668±0,141 <sup>1</sup>	5,84±1,21	18,16±0,76	7,04±0,84 <sup>1</sup>	6,28±0,98	6,12±0,60 <sup>1</sup>
	6-й	0,700±0,108 <sup>1</sup>	6,48±1,23	19,24±1,13	5,96±0,68 <sup>1</sup>	6,16±0,75	18,28±1,43
Ц	2-й	1,212±0,205	7,76±1,64	18,04±1,10	11,04±1,97	7,96±1,67	22,56±2,38 <sup>6</sup>
	4-й	1,316±0,180 <sup>6</sup>	7,92±1,58	18,60±1,20	11,04±1,88	7,28±1,31	22,04±0,73 <sup>6</sup>
	6-й	1,260±0,261	7,52±1,56	19,16±1,55	9,32±1,38 <sup>6</sup>	7,68±1,31	23,04±1,86 <sup>6</sup>
ЦД	2-й	1,2,92±1,19	7,08±0,95	18,12±3,14	14,12±1,62 <sup>1</sup>	6,92±0,76	21,00±1,50
	4-й	9,92±0,76 <sup>1</sup>	6,72±0,68	19,92±0,91 <sup>1</sup>	10,68±0,90	7,40±0,87	20,56±1,08
	6-й	8,92±0,57 <sup>1</sup>	6,52±0,59	20,40±0,50 <sup>1</sup>	7,12±0,60 <sup>1</sup>	6,88±0,60	20,24±0,52
ЦД+Ф	2-й	12,84±1,75	6,96±1,21	20,00±1,15 <sup>1</sup>	9,32±1,03 <sup>2</sup>	7,36±0,91	7,72±0,84 <sup>1,2</sup>
	4-й	8,24±1,13 <sup>1</sup>	6,72±1,14	20,24±0,77 <sup>1</sup>	7,88±0,83 <sup>1,2</sup>	7,04±1,02	7,32±0,89 <sup>1,2</sup>
	6-й	7,92±1,12 <sup>1</sup>	7,56±1,39	20,32±1,18 <sup>1</sup>	7,00±0,76 <sup>1</sup>	6,48±0,82	20,04±1,51

Продовження таблиці 3.4							
1	2	3	4	5	6	7	8
ЦД+Ц	2-й	11,6±1,08	7,16±0,75	18,12±1,13	12,24±0,93 <sup>7</sup>	7,20±0,58	20,16±1,03 <sup>7</sup>
	4-й	10,12±1,13	6,48±0,65	20,44±0,87 <sup>1</sup>	7,48±0,82 <sup>1,3</sup>	7,32±0,69	20,08±1,32 <sup>7</sup>
	6-й	9,48±1,26 <sup>1</sup>	6,44±0,51	20,00±1,04 <sup>1</sup>	7,44±0,77 <sup>1</sup>	6,76±0,60	19,96±0,89

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

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 4. ( <sup>4</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ф – достовірних відмінностей не виявлено.

Примітка 5. ( <sup>5</sup> ) – достовірна різниця показників Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц – достовірних відмінностей не виявлено.

Примітка 6. ( <sup>6</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи Ц.

Примітка 7. ( <sup>7</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.



**У тварин з композитними фотополімерними пломбами** на 2-й тиждень спостережень статистично значущими порівняно до контролю були лише зміни венул в сітчастому шарі – відмічено їх зменшення на 68 % (див. табл. 3.4). Звертає увагу зміна будови мікроциркуляторного русла в регіоні ясеневі борозни – візуально збільшується просвіт венул. За морфологію картина стану судин відповідає картині тварин інтактної групи (див. рис. 3.11).

На 4-у тижні спостереження достовірних змін порівняно до контролю в сосочковому шарі зазнали діаметри артеріол, що були меншими за контроль на 50 %, тоді як в сітчастому шарі і артеріоли (менші на 32 %) і просвіт венул – на 72 % був меншим за контроль (див. табл. 3.4).

На 6-у тижні статистично значущого зменшення просвіту порівняно до контролю зазнали артеріоли в сосочковому шарі на 47 % і на 43 % – в сітчастому. Хоча в останньому шарі візуально було і незначне зменшення просвіту і інших судин (див. табл. 3.4).

**У щурів, яким встановлювали цементну пломбу**, протягом всіх строків спостереження показники розмірів просвіту судин не відрізнялися статистично достовірно від показників контролю. При цьому візуально було відмічене збільшення просвіту венул як в сітчастому, так і в сосочковому шарах вільної частини борозни, але результати були статистично недостовірними в порівнянні з контрольною групою спостереження. Морфологія стінок судин та їх просвіт відповідали морфології судинного русла тварин контрольної групи (див. табл. 3.4).

При порівнянні діаметрів просвітів судин в обох шарах груп з фотополімерною і цементною пломбами було виявлено, що при цементній пломбі судини достовірно були більші за значення щурів із фотополімерною пломбою і такий характер змін мав строкозалежність. Так на 2-й тиждень статистично значущим було збільшення діаметру венул в сітчастому шарі на 230 %, на 4-у – артеріоли в сосочковому шарі були більші за діаметр при фотополімерній пломбі на 97 %, а венули в сітчастому шарі на 260 %. На 6-й

тиждень достовірного збільшення зазнали діаметри артеріол і венул в сітчастому шарі на 56 % і 26 % відповідно (див. табл. 3.4).

**Сформований цукровий діабет у експериментальних щурів** через 2-а тижні спостереження в порівнянні з контролем призводив до достовірного збільшення лише діаметру артеріол в сітчастому шарі, тоді як інші показники достовірних змін порівняно до контролю не зазнали (див. табл. 3.4).

Слід зазначити, що формування експериментального цукрового діабету, впливає на судинний компонент при цьому стінки капілярів та деяких артеріол власної пластинки ставали стовщеними, особливо в сосочковому шарі. Сполучнотканинні сосочки мали згладжений вигляд. Інтраепітеліально та субепітеліально в ділянці ясенної щілини відмічалася поліморфоклітинна інфільтрація та дрібні крововиливи. Особливо виділялися повнокровні судини періодонту (рис. 3.12).

На 4-у тижні спостереження у щурів із цукровим діабетом статистично значущих змін порівняно до контролю зазнали діаметр артеріол, який був менший на 25 %, а венул більшими на 17 % в сосочковому шарі (див. табл. 3.4).

На 4-у тижні спостереження на фоні сформованого цукрового діабету макроскопічних змін у ділянці вільної та прикріпленої частини ясен, а також у ділянці ясенної борозни виявлено не було. Гістологічна картина тканин пародонту майже не відрізнялася від тих змін, що виявлялися на 2-у тижні спостереження. При цьому візуально періодонтальна щілина була розширена, відмічався периваскулярний набряк, крововиливи, що було обумовлено відшарування тканини періодонту від внутрішньої поверхні альвеоли. В деяких артеріолах, що розташовані на межі періодонту та альвеолярного відростка, відмічалася стовщення стінок.

На 6-у тижні спостереження сформованого цукрового діабету зміни були різноспрямовані в обох видах шарів. В сосочковому шарі діаметр артеріол був достовірно менший за контроль на 33 %, тоді як венул був

більший на 20 %. В сітчастому шарі діаметр артеріол, як і в сосочковому, зменшився порівняно до контролю на 31 % (див. табл. 3.4).

Порівняння отриманих цифрових значень експериментальних груп щурів з цукровим діабетом і груп з фотополімерною і цементною пломбами достовірних змін не виявило (див. табл. 3.4). Оглядово виявлено, що ясенева кишеня поглиблена, судини навколо неї кровонаповненні із явищем крововиливів. В ділянці епітелію прикріплений епітелій має зроговілий вигляд. Просвіт судин мікроциркуляторного русла у власній пластинці слизової оболонки звужений. Відмічається венозне повнокров'я та дилатація просвітів капілярів (рис. 3.4).

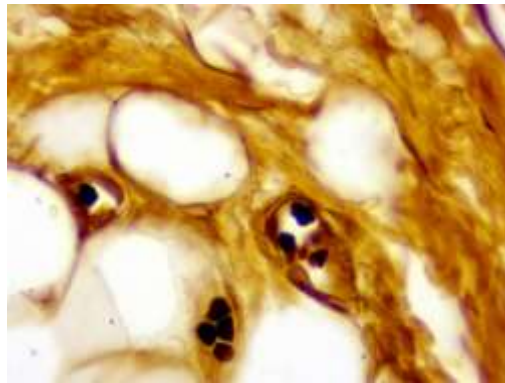


Рисунок 3.4 – Судини мікроциркуляторного русла пародонту щурів з експериментальним цукровим діабетом на 6-й тиждень спостереження.

Імпрегнація за Купріяновим, зб. x1000

У піддослідних тварин, яким встановили **фотополімерні пломби на фоні цукрового діабету** на 2-у тиждні експерименту картина судин мікроциркуляторного русла була подібна тваринам з сформованим цукровим діабетом. У щурів цієї експериментальної групи достовірних змін порівняно з контролем зазнали діаметри венул, як в сосочковому так і в сітчастому шарах, але ці зміни були різноспрямовані. Так у сосочковому вони були більші за контроль на 18 %, а в сітчастому – менші на 64 % (див. табл. 3.4). При цьому терміні спостереження спостерігалися зміни у ділянці вільної та прикріпленої частин ясен, а також у ділянці ясенної борозенки у вигляді крововиливів навколо судин. Гістологічна картина тканин пародонта

практично не відрізнялася від тих змін, що виявлялися на другому тижні спостереження у щурів з цукровим діабетом без встановлення пломб. Періодонтальна щілина в них була так само розширена. Навколо періодонтальної щілини відмічався периваскулярний набряк та крововиливи, спостерігалось відшарування тканин періодонту від внутрішньої поверхні альвеоли. В сітчастому шарі відмічалось стовщення стінок в деяких артеріолах, що розташовані на межі періодонту та альвеолярного відростка.

На 4-у тижні спостереження у щурів із ЦД та фотополімерною пломбою достовірні зміни були в обох шарах за показниками артеріол і венул. В сосочковому і сітчастому шарах діаметр артеріол зменшився на 38 % і 24 % відповідно. В той час як венули в сосочковому збільшились на 19 %, а в сітчастому стали меншими на 66 % (див. табл. 3.4). Оглядом, стінки капілярів та артеріол власної пластинки мали потовщені стінки, особливо в сосочковому шарі. Сполучнотканинні сосочки мали згладжений вигляд, як у тварин з експериментальним цукровим діабетом. Відмічались дрібні крововиливи. Особливо виділялися повнокровні судини періодонту, в місцях прикріплення сполучної тканини до цементу і в підепітеліальній зоні. В сітчастому шарі відмічалось венозне повнокров'я та дилатація просвітів капілярів. Процес склерозування завершувався прогресивним звуженням просвіту судин (рис.3.5).

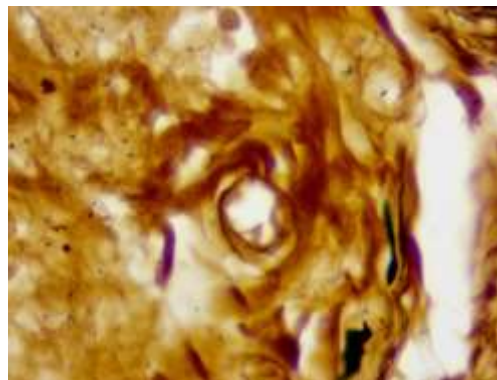


Рисунок 3.5 – Судини мікроциркуляторного русла в тканині пародонту у щурів з експериментальним цукровим діабетом і наявністю фотополімерної пломби, 4-й тиждень спостереження. Імпрегнація за Купріяновим, зб.х400

На 6-й тиждень спостереження у щурів із ЦД та встановленою фотополімерною пломбою зберіглася тенденція до зменшення артеріол в обох шарах – на 40 % і 33 % відповідно. В той час як діаметр венул достовірно був більшим за контроль на 20 % лише в сосочковому шарі (див. табл. 3.4). Через шість тижнів протікання експериментального стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету і наявності фотополімерної пломби ясенева кишеня була так само поглиблена, судини навколо неї залишалися кровонаповненими та із крововиливами.

При порівнянні діаметру судин щурів з фотополімерною пломбою і цукровим діабетом з групою щурів із цукровим діабетом без пломб, то статистично достовірні зміни були виявлені за показниками артеріол і венул в сітчастому шарі на 2-у і 4-у тижнях спостереження. На 2-у вони були менші за діаметр судин щурів з діабетом на 34 % і 63 %, тоді як на 4-у – на 26 % і 64 % відповідно. При порівнянні зі значеннями щурів з фотополімерною пломбою без діабету достовірних змін виявлено не було (див. табл. 3.4).

У щурів з *цементною пломбою на фоні цукрового діабету* на 2-й тиждень спостереження зміни стосувалися перебудови мікроциркуляторного русла як у тварин з експериментальним цукровим діабетом, а статистично значущих відмінностей з контрольною групою не було (рис. 3.6, див. табл. 3.4).

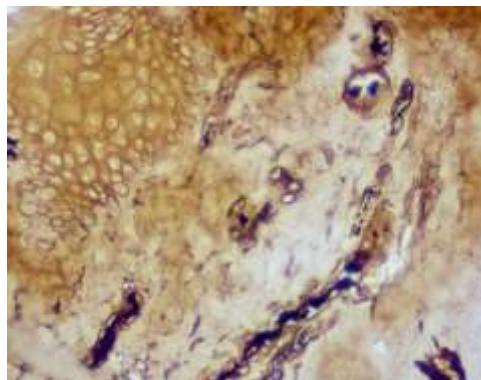


Рисунок 3.6 – М'які тканини пародонту у щурів з цементною пломбою на тлі експериментального цукрового діабету на 2-й тиждень спостереження.

Імпрегнація за Купріяновим, зб. x200

На 4-й тиждень спостережень особливості мікроциркуляторного русла у тварин з експериментальним цукровим діабетом і наявністю цементної пломби такі ж, як у тварин з експериментальним цукровим діабетом на четвертий тиждень. У тканинах періодонтальної щілини, в підепітеліальній зоні, на межі сосочкового і сітчастого шару відмічається периваскулярний набряк і крововиливи. В артеріолах відмічається стовщення стінок, що ймовірно пов'язано зі склерозуванням судини. У тварин цієї експериментальної групи в сосочковому шарі достовірно більшим за контрольні значення був діаметр просвіту венул на 21 %, тоді як артеріоли в сітчастому шарі були меншими за контроль на 28 % (див. табл. 3.4).

Через шість тижнів протікання експериментального стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету і наявності цементної пломби судини власної пластинки щурів були кровонаповненні із явищем крововиливів. Відмічалось венозне повнокров'я та дилатація просвітів капілярів. В сосочковому шарі просвіт артеріол був статистично менший за контроль на 29 %, а венул більший на 18 %. В сітчастому шарі як і у попередньому терміні спостереження було виявлено зменшення просвіту на 28 % порівняно до контролю (див. табл. 3.4).

При порівнянні показників групи щурів з цукровим діабетом і діабетом з цементною пломбою було виявлено достовірне зменшення просвіту артеріол в сітчастому шарі в останніх на 30 %. При порівнянні щурів з цементною пломбою і такої самою, але на тлі діабету статистично значущих відмінностей виявлено не було (див. табл. 3.4).

Цікавою знахідкою було виявлене достовірного збільшення діаметру артеріол і венул на 2-у тиждні спостереження в сітчастому шарі у щурів з цементною пломбою на тлі діабету, порівняно до щурів з фотополімерною пломбою поєднаною з діабетом на 31 % і 161 % відповідно. На 6-у тиждні достовірно більшим був лише діаметр венул в сітчастому шарі на 174 % (див. табл. 3.4).

Таким чином, після встановлення фотополімерної пломби у експериментальних щурів було виявлено звуження артеріол і венул в сітчастому шарі. В той час як після цементної пломби достовірних відмінностей від контролю ідентифіковано не було. Порівняння цих двох груп між собою виявило більші за групу з фотополімерним матеріалом діаметри венул в сітчастому шарі. За умов стрептозотоциніндукованого цукрового діабету у щурів виникають і поступово прогресують структурні перебудови у м'яких тканинах пародонту, що супроводжувались на 6-у тижні експерименту зменшенням діаметрів артеріол в обох шарах порівно до контролю, в той час як венули в сосочковому шарі достовірно збільшувались. Такі зміни мікроциркуляторного русла проявлялись явищами крововиливів, звуженням просвіту судин мікроциркуляторного русла у власній пластинці слизової оболонки і венозним повнокров'ям, дилатацією просвітів капілярів.

Протягом експерименту у тварин зі сформованим цукровим діабетом і наявністю обох видів пломбувального матеріалу у періодонті прогресують зміни у гемомікроциркуляторному руслі, які обумовлюються гіперемією судин, периваскулярним набряком та численними крововиливами, що викликає відшарування тканин періодонту від внутрішньої поверхні альвеоли. Ці прояви є результатом зменшення діаметру артеріол в обох шарах порівняно до контролю, що було особливо виражено на 6-у тижні спостереження, збільшення венул у сосочковому шарі і зменшення в сітчастому шарі, що було характерно виключно для групи з цукровим діабетом з фотополімерною пломбою.

Таким чином, загальний результат проведеного комплексного дослідження, а саме оцінка особливостей фібрило-архітектоніки м'яких тканин пародонту і будови мікроциркуляторного русла власної пластинки ясен щурів експериментальних груп дозволив зробити декілька проміжних висновків.

Важливим результатом дослідження гістотопографічних взаємин волокнистих структур м'яких тканин пародонту стало отримання цілісної

картини морфоструктурних перебудов «опорно-утримуючого апарату зубу» при сформованому цукровому діабеті та при його поєднанні із пломбуванням зубів фотополімерною або цементною пломбами.

На першому етапі дослідження було визначено, що встановлення фотополімерної або цементної пломби щурам практично не впливає на гістотопографічні характеристики пародонту, при цьому усі групи колагенових фібрилярних утворювань зберігають добру розгалуженість з поєднанням поодиноких тонких еластичних волокон. Однак цікавою знахідкою у щурів з цементною пломбою порівняно до групи з фотополімерної було виявлення на 2-у тижні спостереження достовірної більшості на 16,2 % зубо-ясеневих волокон колагену та помірне зниження у тварин з фотополімерним пломбувальним матеріалом фібрилогенезу на 6-у тижні спостереження. Показник інтенсивності накопичення лектинової мітки фібронектину був меншим порівняно до контролю на 4-у і 6-у тижнях спостереження у щурів з фотополімерною пломбою, а з цементною – не відрізнявся від значень контролю протягом всіх строків спостереження. Необхідно зазначити, що у експериментальних щурів після встановлення фотополімерної пломби було виявлено звуження артеріол і венул в сітчастому шарі. В той час як після цементної пломби достовірних відмінностей від контролю ідентифіковано не було. Порівняння цих двох груп між собою виявило у щурів з цементною пломбою більші за групу з фотополімерним матеріалом діаметри венул в сітчастому шарі.

Дослідження впливу на тканини пародонту формування та прогресування цукрового діабету показало достовірне та прогресуюче зниження товщини колагенових волокон. Виразність зменшень та перебудов мала строкозалежність (2-й, 4-й та 6-й тижень), через це – найвиразніші зміни були саме на 6-у тижні експерименту. Колагенових волокна були значно стоншені, переривчасті, звивисті, характеризувалися зменшенням інтенсивності накопичення лектинової мітки до PFA<sup>+</sup>-колагену III типу, що свідчить про значне та прогресуюче порушення фібрило-архітектоніки



тканин пародонту. На 6-у тижні спостереження відмічається зменшення діаметрів артеріол в обох шарах порівно до контролю, в той час як діаметр венул в сосочковому шарі достовірно збільшується. Такі зміни мікроциркуляторного русла проявлялись явищами крововиливів, звуженням просвіту судин мікроциркуляторного русла у власній пластинці слизової оболонки і венозним повнокров'ям, дилатацією просвітів капілярів.

Проведений аналіз цифрових та оглядових досліджуваних показників груп щурів показав, що при поєднанні експериментального цукрового діабету і наявності різних пломбувальних матеріалів показав спільні зміни - це значне та прогресуюче з часом достовірно стоншення колагенових волокон порівняно до контролю, що досягали максимуму на 6-у тижні спостереження. При цьому еластичні волокна мали переривистий та звивистий характер на всіх 3-х термінах спостереження (2-у, 4-у та 6-у тижнях). За показниками товщини різних груп колагенових волокон достовірної різниці встановлено не було, так само як і не було таких відмінностей порівняно до групи з цукровим діабетом. Якщо порівнювати значення досліджуваних параметрів щурів з фотополімерними пломбами і щурів з цими пломбами на тлі ЦД, то достовірно стоншення волокон спостерігалось вже на 4-у тижні спостереження, і досягали максимального зменшення на 6-у. Така сама картина була відмічена при порівнянні цементних пломб і цих самих пломб на тлі ЦД. Волокна PFA<sup>+</sup> - колагену III типу при поєднанні ЦД та встановлення пломб характеризувалися розщепленням, переривчастістю, були подрібнені на окремі фрагменти, особливо в сосочковому шарі. Колагеновий каркас був дезорганізованим та фрагментованим, особливо на 6-у тижні спостереження від розвитку експериментального цукрового діабету. Показник інтенсивності накопичення лектинової мітки фібронектину був меншим порівняно до контролю на 4-у і 6-у тижнях спостереження у щурів з обома видами пломбувального матеріалу на тлі діабету, що відображає наявність перебудов базальної мембрани епітелію і власної пластинки ясен та характеризує дезінтеграцію їх

структури. Значні зміни накопичення мітки до ламініну, що виявлені на 6-у тижні у щурів з фотополімерною пломбою на тлі цукрового діабету, свідчать про значні дезінтеграційні структурні зміни базальної мембрани, через це – зменшення здатності м'яких тканин пародонту до протидії жувальному навантаженню – тобто виявлені ознаки порушення тканинної напруги.

В роботі доведено, що протягом спостереження у тварин зі сформованим цукровим діабетом і наявністю обох видів пломбувального матеріалу у періодонті прогресують зміни у гемомікроциркуляторному руслі, які обумовлюються гіперемією судин, периваскулярним набряком та численними крововиливами, що викликає відшарування тканин періодонту від внутрішньої поверхні альвеоли. Ці прояви є результатом зменшення діаметру артеріол в обох шарах порівняно до контролю, що було особливо виражено на 6-у тижні спостереження, збільшення венул у сосочковому шарі і зменшення в сітчастому шарі, що було характерно виключно для групи з цукровим діабетом з фотополімерною пломбою.

Матеріали розділу відображені в статтях та тезах: [135-137].

## РОЗДІЛ 4

### ГІСТОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЯСНЕВОГО ЕПІТЕЛІЮ, РОЗПОДІЛУ ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНІВ, НАКОПИЧЕННЯ БІОПОЛІМЕРІВ ТА МІКРОБНОГО НАВАНТАЖЕННЯ У ЩУРІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ГРУП

В представленому розділі наведено результати дослідження особливостей гістоморфологічної будови епітелію ясен, накопичення глікозаміногліканів у групах щурів на 2-у, 4-у та 6-у тижнях після встановлення фотополімерної та цементної пломб, та у групах щурів із експериментальним цукровим діабетом із застосуванням фотополімерної та цементної пломб в ті ж самі строки. Візуальна оцінка та оцінка товщини епітелію ясен відбувалася на препаратах що фарбувалися гематоксилін-еозином та ШІК-реакцією з дофарбовуванням ядер гематоксиліном, а накопичення ГАГ оцінювалося за гістохімічною реакцією з альціановим синім.

Окрім гістоморфологічного стану епітелію ясен та накопичення ГАГ в представленому розділі наведені результати напівкількісного аналізу інтенсивності накопичення біополімерів біоплівки, що оцінювався за допомогою лектингістохімічного методу із застосуванням лектинів арахісу, сої, та конкаваліну А, що специфічні до  $\beta$ -D-галактози ( $\beta$ -DGal), галактози ( $\alpha$ NAcDGal) та манози ( $\alpha$ DMan) відповідно. Додатково приведені дані щодо мікробного навантаження на умовну одиницю площі.

#### **4.1 Гістоморфологічні особливості епітелію ясен у щурів експериментальних груп**

Дослідження гістологічних препаратів зафарбованих гематоксиліном і еозином у *тварин контрольної групи* показало, що слизова оболонка ясен

вкрита багат шаровим зроговілим епітелієм. Епітелій ясен багат шаровий плоский зроговілий його товщина дорівнювала  $20 \pm 5$  мкм (табл. 4.1).

Таблиця 4.1 – Товщина епітелію у щурів експериментальних груп, ( $M \pm m$ )

Групи спостереження	Строк спостереження	Кількість мікробних клітин на умовну одиницю площі біоплівки, мкм
К		$20 \pm 5$
Ф	2 тиждень	$18 \pm 4$
	4 тиждень	$19 \pm 5$
	6 тиждень	$19 \pm 4$
Ц	2 тиждень	$21 \pm 5$
	4 тиждень	$20 \pm 4$
	6 тиждень	$21 \pm 4$
ЦД	2 тиждень	$35 \pm 5^*$
	4 тиждень	$34 \pm 4^*$
	6 тиждень	$33 \pm 4^*$
Ф + ЦД	2 тиждень	$36 \pm 5$
	4 тиждень	$35 \pm 5$
	6 тиждень	$34 \pm 5$
Ц + ЦД	2 тиждень	$36 \pm 4$
	4 тиждень	$35 \pm 4$
	6 тиждень	$35 \pm 5$

Примітка. (\*) – достовірна ( $p < 0,05$ ) різниця показників між групами щурів із експериментальним цукровим діабетом та контролем.

Візуальний аналіз зрізів показав, що базальний, шипуватий та зернистий шари епітелію мали хвилястий характер за рахунок вп'ячувань в нього високих сосочків з боку сполучної тканини (рис. 4.1).

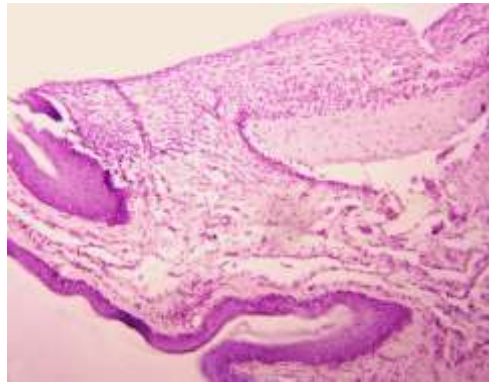


Рисунок 4.1 – Слизова оболонка ясен щурів контрольної групи. ШЙК реакція, дофарбовування ядер гематоксиліном. Зб. x100

З наведеного рисунку видно, що базальний шар епітелію представлено одним рядом клітин з чіткими контурами. Епітелій борозни прикріплення утворював латеральну стінку ясневої борозни і він був без ознак зроговівання. Клітини епітелію за формою були сплющені і утворювали 4-5 шарів (див. рис. 4.1).

Епітелій прикріплення представлено декількома шарами плоских незроговілих епітеліоцитів. Він був продовженням епітелію борозни та вистилав її дно. Навколо зуба він утворював манжетку. В структурі періодонту з клітинних елементів зустрічалися, переважно, фібробласти. Навколо краю зубної альвеоли періодонт переходив в ясна. Ясневий край було вкрито зроговілим плоским епітелієм і він був щільно поєднаний з надкисницею на рівні емалево-цементної межі. Міжзубні сосочки вкриті багатошаровим плоским незроговілим епітелієм, який представлено 4-5 рядами клітин. Шари безклітинного і клітинного цементу добре диференціювалися (рис. 4.2).

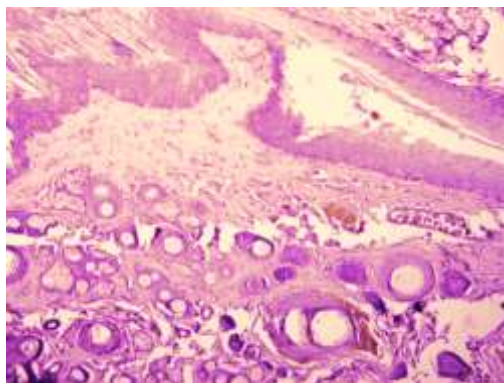


Рисунок 4.2 - М'які тканини пародонта тварин контрольної групи. ШІК-реакція з дофарбовуванням ядер гематоксилином. Зб. х200

*У тварин з фотополімерним пломбувальним* матеріалом на 2-й тиждень спостережень відмічалися зміни ясневого епітелію. Епітеліальний пласт був інфільтрований лейкоцитарними клітинами, що у тварин контрольної групи майже не виявлялося. Його товщина була  $18 \pm 4$  мкм, що статистично не відрізнялося від показників контрольної групи (див. табл. 4.1). Лейкоцити відмічалися у всіх топографічних зонах: в біоплівці, в епітелії, субепітеліально, в регіоні міжзубних сосочків. Епітелій ясневого краю був інфільтрований по всій товщині, а іноді скупчення лейкоцитів спостерігалися і на поверхні біоплівки. В інфільтраті, розташованому в глибині сполучної тканини домінували лімфоцити та макрофаги.

На 4-й тиждень спостереження тварин із фотополімерною пломбою епітелій вільного краю мав такі ж особливості, як і в попередній строк спостереження, статистично не відрізнялися також і показники товщини епітелію, в порівнянні із контрольною групою (див. табл. 4.1). В той же час візуально, кількість нейтрофілів в епітелії була більшою. Епітелій прикріплення також був інфільтрований нейтрофілами інтенсивніше, ніж у тварин експериментальної групи.

На 6-й тиждень після встановлення фотополімерної пломби у експериментальних щурів товщина епітелію вільного краю ясен статистично не збільшувалася в порівнянні з тваринами контрольної групи (див. табл. 4.1). Кількість шарів в ньому також залишалася незмінною відносно контролю і

становила чотири шари, при цьому роговий шар візуально відрізнявся більшою товщиною, ніж в контролі. Епітелій прикріплення візуально також був більш стовщеним, ніж у тварин контрольної групи (рис. 4.3).

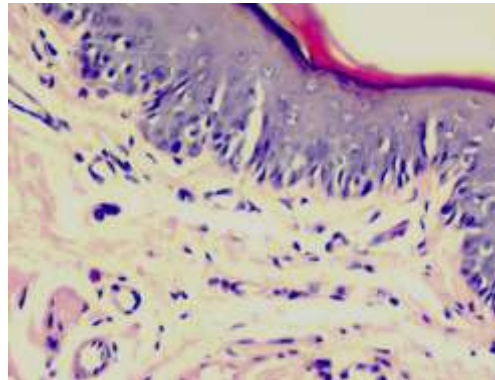


Рисунок 4.3 – Ясна щурів з фотополімерною пломбою на 6-й тиждень спостереження. Фарбування гематоксиліном і еозином. Зб. x100

***При наявності цементної пломби у експериментальних щурів*** епітелій ясен на 2-й тиждень спостережень був вкритий багатошаровим зроговілим епітелієм. Незроговілий епітелій мав базальний, шипуватий і зернистий шари, подібно до тварин групи контролю. Роговий шар в епітелії ясен цієї групи щурів виглядав компактним і цільним. Сумарна товщина епітелію статистично не відрізнялась від контролю (див. табл. 4.1). Епітелій борозни утворював латеральну стінку ясневої борозни. Він не мав ознак зроговіння та мав товщину, як у контролі. Клітини епітелію вирізнялися значно сплющеною формою і утворювали 4-5 шарів клітин, серед яких зустрічалися лімфоцити і макрофаги. Епітелій прикріплення був інфільтрований помірною кількістю нейтрофілів. Кількість шарів епітеліальних клітин в регіоні дна ясневої борозни – до 20, біля шийки зуба значно менше – 5-6. Епітелій інфільтровано лейкоцитами і лімфоцитами (рис. 4.4).

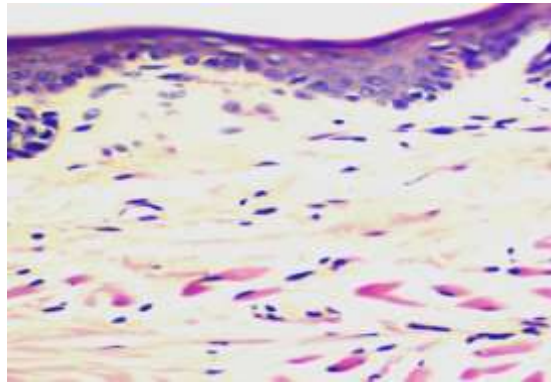


Рисунок 4.4 – Епітелій ясен щурів з цементною пломбою на 2-й тиждень спостереження. Фарбування гематоксилином і еозином, Зб. x200

У експериментальних тварин з цементною пломбою на 4-й та 6-й тижні спостереження слизова оболонка ясен була вкрита плоским багатошаровим зроговілим епітелієм. За аналогією із групою щурів із фотополімерною пломбою на 6-у тижні спостереження роговий шар виглядав компактним та цільним. Його товщина статистично не відрізнялася від відповідного показнику контролю (див. табл. 4.1). При цьому, епітелій ясневої борозни не мав ознак зроговіння. Слід відмітити незначну лейкоцитарну інфільтрацію шарів епітелію, яка на 4-у тижні була більшою, ніж на 6-у.

Таким чином, в умовно здорових тварин при встановленні фотополімерної та цементної пломб гістоморфологічно відмічалася схожа реакція епітелію ясен: зроговіння, та лейкоцитарна інфільтрація, що відмічається на 2-у тижні, досягає візуально свого максимуму на 4-у, та зменшується на 6-му. При цьому, виявлене помірне потовщення епітеліального шару статистично було на рівні контролю.

Наступним етапом дослідження було вивчення особливостей гістоморфологічної структури епітелію ясен у тварин з експериментальним цукровим діабетом та застосуванням фотополімерної і цементної пломб та спостереженням за змінами через 2-а, 4-и та 6-ь тижнів після їх встановлення.

Так у *тварин з експериментальним цукровим діабетом* на 2-й тиждень спостережень слизова оболонка ясен була вкрита багатошаровим зроговілим епітелієм. Епітелій був статистично ширше, в порівняні з



показниками тварин контрольної групи, переважно, за рахунок рогового шару, який на вигляд був більш пухкий і розшарований, що є ознакою гіперкератозу (див. табл. 4.1). На 4-й тиждень спостережень від встановлення пломби щурам з експериментальним цукровим діабетом епітеліальний шар був інфільтрований лейкоцитами і лімфоцитами. Лейкоцити виявлялися в епітелії, субепітеліально і в регіоні міжзубних сосочків. Верхівки міжзубних сосочків були набряклі, в результаті чого вони мали стовщену форму і на них з'являлися ділянки зроговіння. Вільний край ясен характеризувався гіперкератозом. Статистично епітелій ясен у цієї груп тварин був товще контролю (див. табл. 4.1). В той же час, на 6-й тиждень після встановлення пломби щурам з ЕЦД в них спостерігалися наступні зміни: зроговіння епітелію, при цьому зернистий шар був практично відсутній, в роговому шарі виявлялися клітини з пікнотичними ядрами, крім того, цей шар мав розпушений вигляд і товщина його переважала товщину інших шарів (рис. 4.5). Сумарно, товщина епітелію у щурів з цукровим діабетом на 6-му тижні після встановлення пломби статистично вірогідно переважала показники контролю (див. табл. 4.1).

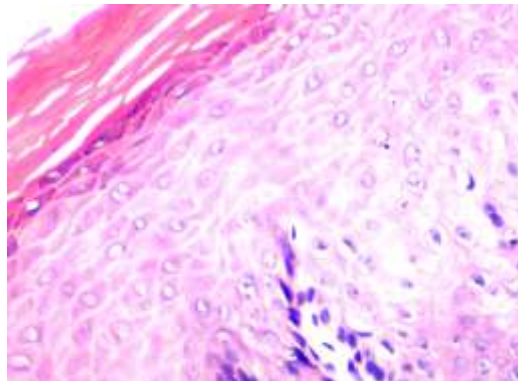


Рисунок 4.5 – Епітелій ясен щура з експериментальним цукровим діабетом на 6-й тиждень спостереження. Фарбування гематоксиліном і еозином. Зб. х 400

В групі щурів з *експериментальним цукровим діабетом і фотополімерною пломбою* на 2-му тижні після її встановлення виявлялася

специфічна картина будови епітелію ясен. Багатошаровий плоский зроговілий епітелій за товщиною статистично не перевищував відповідний показник щурів із цукровим діабетом з таким же строком протікання патологічного процесу (див. табл. 4.1). Незроговіла частина епітелію була представлена базальним, шипуватим і зернистими шарами. Базальна мембрана візуально мала хвилясту форму, що робило мікроскопічну картину рядів епітелію також не лінійними. Сосочки сполучної тканини глибоко заходили у товщу епітеліального пласту. В зроговілій частині відмічалось зростання кількості рядів кератиноцитів. Найбільш поверхневі їх ряди мали розпушений характер.

При поєднанні цукрового діабету і наявності фотополімерної пломби на 4-й тиждень спостережень епітелій мав товщину  $35\pm 5$  мкм, що статистично не відрізнялося від відповідного показнику щурів із цукровим діабетом з таким же строком протікання патологічного процесу (див. табл. 4.1). Незроговілий епітелій у цих щурів характеризувався структурою базального, шипуватого і зернистого шару, подібного до діабетичних тварин без пломби, проте роговий шар візуально був більш розшарованим. Гістоморфологічна структура епітелію ясен у щурів із експериментальним цукровим діабетом та фотополімерною пломбою на 6-й тиждень її встановлення характеризувалася статистично не змінною, відносно щурів із діабетом з тим же строком протікання патологічного процесу, товщиною епітелію (див. табл. 4.1). Мікроскопічна структура була подібною до такої у щурів з цукровим діабетом і фотополімерною пломбою на 4-й тиждень спостереження.

*При поєднанні цукрового діабету і наявності цементної пломби* на 2-й тиждень після встановлення пломби, епітелій мав товщину  $36\pm 4$  мкм, що статистично не відрізнялося від групи з цукровим діабетом, та цукровим діабетом з фотополімерною пломбою (див. табл. 4.1). За виглядом клітини епітелію були сплющеної форми. Вони утворювали 4-5 шарів, серед яких виявлялися лімфоцити. Епітелій прикріплення був інфільтрований

нейтрофілами. Кількість шарів епітеліальних клітин в регіоні дна ясневої борозни було до 20, біля шийки зуба значно менше – не більше 5-6.

Стосовно груп щурів із цукровим діабетом та цементною пломбою на 4-й та 6-й тиждень спостереження слід зауважити, що в них статистичної відмінності у товщині епітеліального шару ясен, порівняно із групою діабетичних тварин без пломб, встановлено не було (див. табл. 4.1). Гістоморфологічна картина нагадувала таку у щурів із цукровим діабетом та цементною пломбою у попередній строк спостереження.

Таким чином, у щурів із експериментальним цукровим діабетом встановлення пломбувального матеріалу не викликало статистичних змін у показнику товщини епітелію відносно щурів із цукровим діабетом без пломбувального матеріалу.

#### **4.2 Особливості розподілу глікозаміногліканів в тканинах пародонту у щурів експериментальних груп**

В захисних функціях епітелію ясен важливу роль відіграють глікозаміноглікани, що входять до складу цементуючої речовини між клітинами багат шарового плоского епітелію. Крім того на якісну та кількісну характеристику накопичень глікозаміногліканів впливає характер мікрофлори біоплівки ясен. Виявлення всього комплексу глікозаміногліканів стає можливим після зафарбовування альціановим синім коли спостерігається інтенсивне зафарбовування епітелію ясен. Так як епітеліальні клітини ясен синтезують 4- і 6-хондроїтин-сульфат, гепаран-сульфат, тому епітелій забарвлюється при молярності  $MgCl_2$  0,6 і 0,2 у блакитний і темно-блакитний колір відповідно.

В результаті вивчення розподілу ГАГ в епітелії ясен у щурів контрольної групи було встановлено, що в їх слизовій оболонці домінує хондроїтин-4-сульфат, менша інтенсивність накопичення характерна для

дерматан-сульфату, гіалуронової кислоти і найменшим було накопичення гепаран-сульфату (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 – Інтенсивність накопичення глікозаміногліканів в епітелії ясен щурів експериментальних груп

Група	Тиж.	Глікозаміноглікани				
		4-хондроїтин-сульфат	6-хондроїтин-сульфат	дерматан-сульфат	гіалуронова кислота	гепаран-сульфат
К		+++	++	++	++	+
Ф	2-й	+++	++	++	++	+
	4-й	++	+++	+	+/+++	+
	6-й	+	+	-/+	+	+
Ц	2-й	+++	++	++	++	+
	4-й	+++	++	++	++	+
	6-й	+++	++	++	++	+
ЦД	2-й	++	++	+/+++	+	+
	4-й	+++	+++	+	+	+
	6-й	+++	+++	+	+	+/-
ЦД+Ф	2-й	++	++	+	+	+
	4-й	+	+	+	+	+
	6-й	+	+	+	+/-	+/-
ЦД+Ц	2-й	++	++	+/+++	+	+
	4-й	++	+++	+	+	+
	6-й	++	++	+	+	+/-

В той же час у щурів із фотополімерною пломбою на 2-й тиждень після її встановлення спостерігалася подібна інтенсивність накопичення та розподілу ГАГ, що і в контролі (див. табл. 4.2).

На 4-й тиждень після встановлення фотополімерної пломби спостерігалось зменшення накопичення 4- та 6- хондроїтин-сульфату, дерматан-сульфату та гіалуронової кислоти відносно контрольних тварин та тварин із фотополімерною пломбою на 2-й тиждень після її встановлення. Тоді як накопичення гепаран сульфату залишалось незмінним. В той же час на 6-й тиждень після встановлення фотополімеру у експериментальних щурів відмічалась найменша інтенсивність накопичення всіх досліджуваних ГАГ, порівняно із попередніми строками спостереження, крім гепаран-сульфату, накопичення якого не змінювалось протягом всього періоду спостереження експериментальних груп щурів і залишалось на рівні контролю (див. табл. 4.2).

Стосовно тварин із цементною пломбою, то в порівнянні із групою контролю в них протягом всього періоду спостереження (з 2-о по 6-й тиждень) не було встановлено відмінності відносно контрольних тварин в інтенсивності накопичення ГАГ. При порівнянні цієї групи експериментальних тварин із щурами з фотополімерною пломбою із відповідними строками спостереження було встановлено наступне: на 2-й тиждень не було відмінностей від відповідної групи щурів із фотополімером; на 4-й тиждень спостереження інтенсивність накопичення 4-, 6-хондроїтин-сульфату, дерматан-сульфату, гіалуронової кислоти була більшою, а гепаран-сульфату не змінилася відносно щурів із фотополімером відповідного строку спостереження; тоді як у щурів із цементною пломбою відносно щурів із фотополімером на 6-й тиждень спостереження спостерігалась більша інтенсивність накопичення всіх досліджуваних ГАГ, окрім гепаран-сульфату, накопичування якого залишалось незмінним (див. табл. 4.2).

Таким чином, у умовно здорових щурів встановлення фотополімерного пломбувального матеріалу порівняно із контролем призводило до прогресивного зменшення інтенсивності накопичення ГАГ (окрім гепаран-сульфату) в строках з 2-о по 6-й тиждень спостереження. В той же час, встановлення цементної пломби на всіх строках спостереження відносно

контрольних щурів не змінювало склад ГАГ в епітелії ясен щурів. При порівнянні інтенсивності накопичення ГАГ в групах щурів із цементною пломбою відносно щурів із фотополімерною пломбами було встановлено більшу інтенсивність накопичення досліджуваних ГАГ. Окремо слід виділити той момент, що накопичення гепаран-сульфату ніяк не змінилося на жодному строкові спостереження не залежно від застосовуваного пломбувального матеріалу.

***Наявність експериментального цукрового діабету*** у щурів на 2-й тиждень спостереження в порівнянні із групою контролю характеризувалася зменшенням інтенсивності накопичення 4-хондроїтин-сульфату, дерматан-сульфату та гіалуронової кислоти. Тоді як рівень 6-хондроїтин-сульфату та гепаран сульфату залишався не змінним. Подальше протікання ЦД на 4-у тижні характеризувалося зменшенням інтенсивності накопичення всіх ГАГ (окрім гепаран-сульфату, що був не змінним) порівняно до інтактних тварин та тварин із 2-тижневим терміном спостереження. 6-и тижневий період у експериментальних щурів з ЦД порівняно до контролю та до тварин із 2-х та 4-х тижневим періодами ЦД характеризувався зменшенням інтенсивності накопичення всіх досліджуваних ГАГ в епітелію ясен щурів експериментальних груп (див. табл. 4.2).

***У тварин із встановленою фотополімерною пломбою на тлі цукрового діабету*** на 2-й тиждень після її встановлення порівняно до щурів із ЦД відповідного 2-о тижневого періоду спостереження відмічалось незначне зменшення інтенсивності накопичення дерматан-сульфату на фоні незмінних показників накопичення інших ГАГ. В той же час на 4-у та 6-у тижнях після встановлення фотополімерної пломби щурам з ЦД в них спостерігались найнижчі показники накопичення всіх ГАГ в епітелії ясен, порівняно із щурами із відповідним строком протікання ЦД (див. табл. 4.2).

На 2-й тиждень після встановлення цементної пломби у щурів з цукровим діабетом було встановлено, що накопичення ГАГ не відрізнялось від такого у щурів із ЦД з відповідним строком спостереження. При

порівнянні накопичення ГАГ у щурів з ЕЦД із цементною пломбою та фотополімерною пломбою на 2-й тиждень після їх встановлення було показано, що у останніх нижче накопичення дерматан-сульфату, при незмінному накопиченні інших ГАГ. 4-й тиждень після встановлення цементної пломби у щурів із ЦД, порівняно із щурами з ЦД відповідного строку характеризувався незмінним показниками накопичення всіх досліджуваних ГАГ, тоді як порівняно із тим же строком щурів з ЦД з фотополімерною пломбою відмічалися більші показники накопичення 4-, 6-хондроїтин-сульфату, при незмінному накопиченні інших ГАГ. В той же час, при порівнянні цього показнику у щурів з ЦД з 4-х тижневою цементною пломбою з щурами з ЦД з 2-х тижневою цементною пломбою було встановлено меншу інтенсивність накопичення 6-хондроїтин-сульфату та дерматан-сульфату. Тоді як тварини з ЦД з цементною пломбою через 6-ть тижнів відносно щурів з ЦД з відповідним строком спостереження характеризувалися незмінною інтенсивністю накопичення всіх ГАГ. Порівняння цієї групи тварин із відповідною експериментальною групою із встановленою фотополімерною пломбою показало більшу інтенсивність накопичення 4-, 6-хондроїтин-сульфату. Тоді як порівняння результатів тварин із ЦД та 6-ти тижневою пломбою відносно груп із більш ранніми строками спостереження практично не показало різниці у інтенсивності накопичення ГАГ в епітелії щурів (див. табл. 4.2).

Таким чином, цукровий діабет у експериментальних щурів з 2-о по 6-й тижні спостереження призводив до зменшення інтенсивності накопичення всіх досліджуваних ГАГ в епітелії ясен порівняно до контрольних щурів. В той же час встановлення фотополімеру щурам із сформованим ЦД призводило до прогресуючого зниження інтенсивності накопичення ГАГ за час спостереження, тоді як встановлення цементної пломби практично не впливало на цей показник у щурів з ЦД.

### 4.3 Особливості накопичення біополімерів у щурів експериментальних груп

Вивчення накопичення біополімерів ( $\beta$ -D-галактози ( $\beta$ -DGal), галактози ( $\alpha$ NAcDGal) та манози ( $\alpha$ DMan)) у щурів із застосуванням фотополімерного та цементного пломбувальних матеріалів, а також у щурів із цукровим діабетом і застосуванням фотополімерного та цементного пломбувальних матеріалів на фоні експериментального цукрового діабету в різні строки пломбування і відповідного спостереження за перебігом патологічного стану (2, 4 та 6 тижнів) показало наявність певних особливостей інтенсивності накопичення біополімерів в пародонті експериментальних щурів.

Так, шар біоплівки у *контрольних тварин* при постановці лектин-гістохімічної реакції до  $\beta$ DGal та  $\alpha$ DMan мав неоднорідну структуру і був представлений прозорими хвилеподібними структурами, які мали коричневий колір (помірну реакцію – ++), тоді як до  $\alpha$ NAcDGal реакція була слабкою (світло-коричневий колір – +). Таке фарбування було обумовлено різною інтенсивністю накопичення бензидину, який приєднується до комплексу вуглеводних залишків в структурі біоплівки і ліганду лектин-пероксидази хрому (табл. 4.3, рис 4.6).

Таблиця 4.3 - Динаміка інтенсивності накопичення біополімерів в біоплівці епітелію ясен щурів експериментальних груп

Групи спостереження	Строк спостереження	Вуглевод в структурі біоплівки		
		$\beta$ DGal	$\alpha$ DMan	$\alpha$ NAcDGal
1	2	3	4	5
К		++	++	+
Ф	2 тиждень	+++	+++	+
	4 тиждень	+++	++/+++	+++
	6 тиждень	+++	+++	+++



Продовження таблиці 4.3				
1	2	3	4	5
Ц	2 тиждень	+++	++	+
	4 тиждень	++/+++	++/+++	+ / ++
	6 тиждень	++/+++	++/+++	+ / ++
ЦД	2 тиждень	++/+++	++/+++	+ / ++
	4 тиждень	++/+++	+++	+ / ++
	6 тиждень	+++	+++	+++
ЦД+Ф	2 тиждень	++	++/+++	++
	4 тиждень	+++	+++	+++
	6 тиждень	+++	+++	+++
ЦД+Ц	2 тиждень	++	++	+
	4 тиждень	++	++	+
	6 тиждень	++	++	+



Рисунок 4.6 – Ясна щура контрольної групи. Біоплівка з наявністю кокової мікрофлори. Фарбування за Брауном-Бренном. Зб. x1000

Біоплівка епітелію борозни *у щурів з фотополімерною пломбою* на 2-у тиждні спостереження була на 1/3 товща, ніж у тварин контрольної групи і мала розшарований, розпушений вигляд, що є умовою створення зубо-ясневої кишени. В біоплівці мікроорганізми мали скупчення у вигляді агрегатів, на відміну від тварин групи контролю, в якій вони більш-менш

розподілялися всією товщиною біоплівці. В той же час було встановлено, що реакція до вуглеводних залишків  $\alpha$ NAcDGal мала рівень тварин контрольної групи. Разом з тим в цій експериментальній групі щурів було встановлено сильну реакцію до галактози (+++) та манози (+++) (див. табл. 4.3).

В біоплівці експериментальних тварин з фотополімерною пломбою на 4-у тижні спостереження після встановлення пломбувального матеріалу інтенсивність накопичення біополімерів з вуглеводними залишками  $\beta$ DGal,  $\alpha$ NAcDGal і  $\alpha$ DMan зростала. Так накопичення біополімерів, що мали рецептори до галактози (+++) та манози (++)/(+++) і  $\beta$ -D-галактози (+++) була більшою відносно контролю (див. табл. 4.3).

Стосовно стану біоплівки у тварин із фотополімерною пломбою на 6-у тижні спостереження після встановлення пломбувального матеріалу треба відмітити, що візуально вона мала різну товщину (рис. 4.7).



Рисунок 4.7 – Біоплівка у тварин з фотополімерним пломбувальним матеріалом на 6-й тиждень спостереження . Фарбування за Брауном-Бренном. Зб. x1000

В той же час у цієї групи тварин інтенсивність накопичення біополімерів із залишками  $\beta$ DGal,  $\alpha$ NAcDGal і  $\alpha$ DMan зростала в порівнянні з контрольною групою. Якщо порівнювати із минулим строком спостереження, то в цій експериментальній групі дещо сильнішою стала реакція до  $\alpha$ DMan, тоді як реакція до  $\beta$ DGal і  $\alpha$ NAcDGal не змінилася (див. табл. 4.3) .

Оцінка вуглеводних залишків біополімерів біоплівки *тварин із цементною пломбою* на 2-й тиждень після її встановлення показала, що порівняно із контролем найсильнішою інтенсивністю накопичення характеризувалася  $\beta$ DGal, тоді як представленість  $\alpha$ DMan та  $\alpha$ NAcDGal була на рівні групи порівняння. Відносно групи щурів із фотополімерною пломбою в цей же період спостереження у тварин із цементною пломбою переважало накопичення  $\alpha$ DMan (див. табл. 4.3, рис. 4.8).

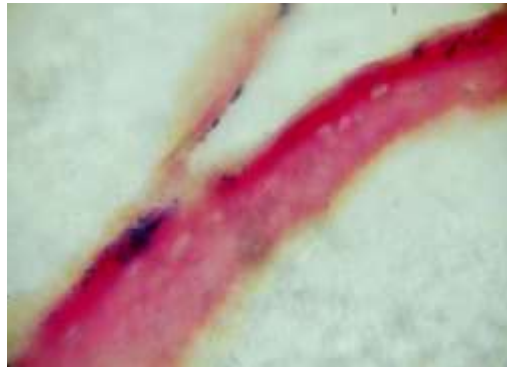


Рисунок 4.8 – Біоплівка у тварин з цементним пломбувальним матеріалом на 2-й тиждень спостереження. Фарбування за Брауном-Бренном.  
Зб.  $\times 1000$

На 4-й тиждень спостереження тварин із встановленою цементною пломбою відносно контролю встановлено посилення інтенсивність накопичення всіх трьох досліджуваних вуглеводних залишків біополімерів. При порівнянні цього показнику з минулим строком спостереження слід зауважити, що реакція до  $\beta$ DGal була слабкішою (помірно-сильною), а до  $\alpha$ DMan та  $\alpha$ NAcDGal – сильнішою (помірно-сильною та слабко-помірною відповідно). Порівнюючи ці показники між групами тварин із фотополімерною та цементною пломбами з тими ж строками спостереження було встановлено слабшу реакцію до  $\beta$ DGal та  $\alpha$ NAcDGal у тварин із цементною пломбою (табл. 4.3).

Інтенсивність накопичення біополімерів на 6-й тиждень спостереження щурів із встановленою цементною пломбою повністю відповідала такому на 4-у тижні. Порівняння показників цієї групи із відповідною групою щурів

з фотополімерною пломбою показало послаблення накопичення всіх трьох досліджуваних вуглеводних залишків біополімерів біоплівки (див. табл. 4.3).

Таким чином, встановлення пломбувального матеріалу не залежно від його виду у експериментальних щурів з 2-о по 6-й тиждень спостереження призводило до поступового посилення інтенсивності накопичення вуглеводних залишків в біоплівці відносно контрольних тварин.

Окремо досліджували *вплив цукрового діабету* в різні строки спостереження (2-й, 4-й та 6-й тиждень) на накопичуваність біополімерів біоплівки у експериментальних щурів. Було встановлено, що щури із експериментальним цукровим діабетом на 2-й тиждень спостереження мали більшу інтенсивність накопичення вуглеводних залишків (помірно-сильне накопичення  $\beta$ DGal,  $\alpha$ DMan і і помірно-слабке у  $\alpha$ NAcDGal) в біоплівці в порівнянні з тваринами контрольної групи. На 4-й тиждень спостереження у щурів з ЦД інтенсивність накопичення вуглеводних залишків  $\beta$ DGal і  $\alpha$ NAcDGal в біоплівці відповідала попередньому строку, тоді як накопичуваність  $\alpha$ DMan за 2-а тижні збільшилась від помірно-сильної до сильної (див. табл. 4.3). Інтенсивність накопичення вуглеводних залишків на 6-й тиждень спостереження у щурів із ЦД до всіх трьох досліджуваних вуглеводних компонентів біоплівки була найвищою за всі періоди спостереження цієї експериментальної групи (див. табл. 4.3). Отже, експериментальний цукровий діабет у щурів характеризувався поступовим накопиченням  $\beta$ DGal,  $\alpha$ DMan та  $\alpha$ NAcDGal з 2-о по 6-й тиждень спостереження. Крім вивчення особливостей інтенсивності накопичення вуглеводних залишків біополімерів біоплівки у щурів із експериментальним цукровим діабетом було досліджено зміни цього показнику при застосуванні фотополімерної та цементної пломб у тварин з діабетом на 2-й, 4-й та 6-й тиждень від постановки пломбувального матеріалу відносно щурів із ЦД відповідного строку спостереження.

Дослідження показало, у щурів *із експериментальним цукровим діабетом із застосуванням фотополімерної пломби* на 2-й тиждень після її

встановлення порівняно із щурами з експериментальним цукровим діабетом відповідного строку спостереження інтенсивність накопичення  $\beta$ DGal незначно зменшилася (помірна у першій групі та помірно-сильна у групі порівняння), накопичення  $\alpha$ DMap не змінилося, тоді як накопичення  $\alpha$ NAcDGal незначно збільшилося (помірна реакція проти помірно-слабкої у групи порівняння) (див. табл. 4.3). На 4-й тиждень після встановлення фотополімерної пломби у щурів із експериментальним цукровим діабетом в порівнянні із відповідним строком спостереження у щурів з ЦД без встановлення пломб, збільшилась інтенсивність накопичення  $\beta$ DGal та  $\alpha$ NAcDGal (сильна реакція, проти помірно-сильної та помірно-слабкої відповідно у групі порівняння), а накопичення  $\alpha$ DMap не відрізнялося від групи порівняння (див. табл. 4.3). На 6-й тиждень спостережень у тварин з поєднанням цукрового діабету і наявності фотополімерної пломби кількість нашарувань вуглеводних залишків також показала максимальні показники та при порівнянні інтенсивності їх накопичення із тваринами з ЦД без пломби та відповідним строком спостереження – відмінностей встановлено не було (див. табл. 4.3).

В той же час, у *тварин з експериментальним цукровим діабетом і встановленою цементною пломбою* на 2-й тиждень спостережень відносно щурів із ЦД без пломбувального матеріалу на тому ж терміні спостереження показало меншу інтенсивність накопичення всіх трьох досліджуваних вуглеводних біополімерів (див. табл. 4.3).

На відміну, при порівнянні показників цієї групи тварин із відповідною групою із фотополімерною пломбою накопичення  $\alpha$ DMap та  $\alpha$ NAcDGal було меншим (помірне та слабке відповідно), а  $\beta$ DGal – залишалось на рівні з групою порівняння (див. табл. 4.3, рис. 4.9).



Рисунок 4.9 – Біоплівка ясен щура з експериментальним цукровим діабетом і наявністю цементної пломби, 2-й тиждень спостереження.

Фарбування за Брауном-Бренном. Зб. x 1000

Слід зауважити, що інтенсивність накопичення вуглеводних залишків у щурів із експериментальним цукровим діабетом і встановленою цементною пломбою в подальші строки спостереження (4-й та 6-й тиждень від встановлення пломби) ніяк не змінилася. При порівнянні показника накопичення біополімерів цих експериментальних груп із щурами із цукровим діабетом та щурами із фотополімерною пломбою на фоні цукрового діабету у відповідні строки було встановлено, що у щурів із цементною пломбою на фоні цукрового діабету на 4-й та 6-тижні після встановлення пломби інтенсивність накопичення вуглеводних залишків у біоплівці була значно меншою відносно груп порівняння (див. табл. 4.3).

Таким чином, встановлення фотополімерного пломбувального матеріалу на фоні цукрового діабету характеризується збільшенням інтенсивності накопичення вуглеводних залишків в біоплівці ротової порожнини, тоді як в експериментальній групі щурів з діабетом та встановленою цементною пломбою не відмічалось росту накопичення вуглеводних біополімерів як відносно щурів з діабетом без пломб, так і відносно щурів з ЦД та фотополімерною пломбою.

#### 4.4 Особливості мікробного навантаження в біоплівці ротової порожнини щурів експериментальних груп

Вивчення особливостей мікробного навантаження в біоплівці щурів експериментальних груп показало певні відмінності, що залежали від виду пломбувального матеріалу, який застосовувався, та наявності супутнього патологічного стану цукрового діабету. Так у *тварин контрольної групи* кількість мікробних клітин на умовну одиницю площі біоплівки становила  $256,80 \pm 16,85$  (табл. 4.4). Мікрофлора відмічалася переважно кокова (рис. 4.9).

Таблиця 4.4 - Динаміка кількість мікробних клітин на умовну одиницю площі біоплівки у тварин експериментальних груп ( $M \pm m$ )

Групи спостереження	Строк спостереження	Кількість мікробних клітин на умовну одиницю площі біоплівки
1	2	3
К		$256,80 \pm 16,85$
Ф	2 тиждень	$290,04 \pm 16,34$
	4 тиждень	$315,28 \pm 24,41$
	6 тиждень	$332,00 \pm 17,57^1$
Ц	2 тиждень	$269,32 \pm 14,43$
	4 тиждень	$278,64 \pm 13,92$
	6 тиждень	$290,32 \pm 24,58$
ЦД	2 тиждень	$540,00 \pm 12,10^1$
	4 тиждень	$561,40 \pm 11,24^1$
	6 тиждень	$588,00 \pm 12,16^{1,3}$
Ф + ЦД	2 тиждень	$843,00 \pm 14,27^2$
	4 тиждень	$860,16 \pm 15,39^2$
	6 тиждень	$877,00 \pm 15,03^2$

Продовження таблиці 4.4		
1	2	3
Ц + ЦД	2 тиждень	651,08±12,77 <sup>2, 4</sup>
	4 тиждень	669,32±12,34 <sup>2, 4</sup>
	6 тиждень	687,004±13,57 <sup>2, 4</sup>

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

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) – вірогідна різниця показників ЦД+Ф та ЦД+Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) – вірогідна різниця показників ЦД 6-й тиждень ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показнику ЦД 2-й тиждень.

Примітка 4. ( <sup>4</sup> ) – вірогідна різниця показників ЦД+Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників ЦД+Ф.

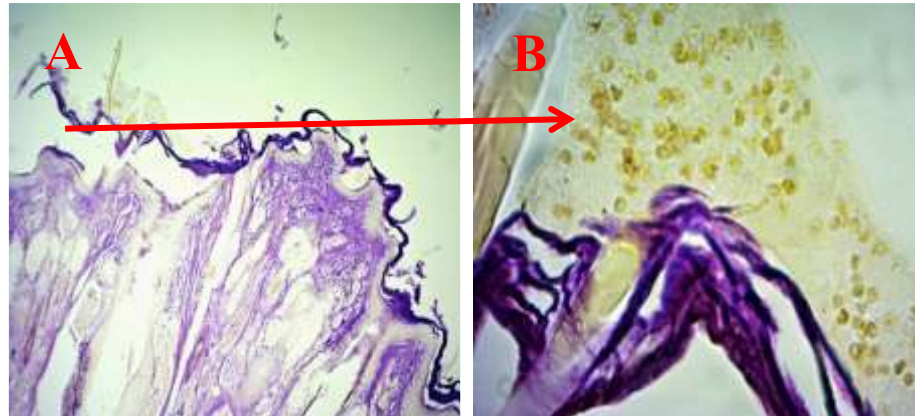


Рисунок 4.9 – Визначення мікроорганізмів в біоплівці тварин з фотополімерною пломбою на 2-й тиждень після її встановлення. Фарбування за Брауном-Бренном. Зб. А) 100, В) 1000

Тоді як в біоплівці у тварин з фотополімерною пломбою на 2-й тиждень після її встановлення кількість мікроорганізмів на умовну одиницю площі становила  $290,04\pm 16,34$  клітин, що статистично не відрізнялося від показника тварин контрольної групи (див. табл. 4.4). В біоплівці також переважала грампозитивна кокова мікрофлора.

На 4-й тиждень спостереження у тварин з фотополімерною пломбою кількість мікробних клітин статистично не відрізнялася від показнику контролю та попереднього строку спостереження (див. табл. 4.4). Тоді як у



тварин з тією ж пломбою на 6-й тиждень спостереження після її встановлення, кількість мікробних клітин на умовну одиницю площі ставала статистично більшою за показник контролю на 29,2 %. Тоді як статистичної різниці в кількості мікробів із попередніми строками спостереження тварин із фотополімерною пломбою встановлено не було (див. табл. 4.4).

В свою чергу, у тварин з наявністю цементної пломби на 2-й тиждень спостереження кількість мікробних клітин на умовну одиницю площі біоплівки статистично не відрізнялася від показнику контрольних тварин та показнику у тварин з фотополімерною пломбою. На 4-й і 6-й тижні спостережень тварин із цементною пломбою кількість мікробних клітин на умовну одиницю також статистично не відрізнялося від показнику контролю та від тварин із фотополімерною пломбою із відповідним строком спостереження (див. табл. 4.4).

Таким чином, в умовно здорових тварин встановлення фотополімерної пломби порівняно із контрольними щурами призводило до статистичного збільшення мікробного навантаження лише на 6-й тиждень після її встановлення, тоді як встановлення цементної пломби не призводило до статистичного збільшення показників мікробного навантаження в порівнянні із показниками контролю та показниками щурів із фотополімерною пломбою на той же строк спостереження.

*У тварин із цукровим діабетом* на 2-й тиждень спостереження кількість мікробних клітин в біоплівці на умовну одиницю площі була вдвічі більшою ніж у тварин контрольної групи. В той же час, у тварин із цукровим діабетом вже на 4-й тиждень спостереження кількість мікробних клітин на умовну одиницю площі ставала вірогідно більшою за показник контролю на 119 %, проте статистично не відрізнялася від попередньої групи спостереження. На 6-й тиждень спостереження у щурів із ЦД кількість мікробних клітин на умовну одиницю площі також вірогідно перевищувала показник контролю на 119 %. При порівнянні показнику мікробного навантаження в цій групі тварин із показником тварин із ЦД на ранніх

строках спостереження статистична відмінність була встановлена лише із тваринами з ЦД із 2-х тижневим періодом спостереження (див. табл. 4.4).

**Встановлення фотополімерного пломбувального матеріалу тваринам із цукровим діабетом** через 2-а тижні характеризувалося зростанням кількості мікробних клітин в біоплівці до  $843,00 \pm 14,27$  на умовну одиницю площі, що статистично вірогідно на 56 % ставало більше в порівнянні із щурами із ЦД відповідного строку спостереження. На 4-у тижні після встановлення фотополімерної пломби у щурів із ЦД кількість мікробних клітин на умовну одиницю площі вірогідно 53 % перевищувала відповідний показник щурів із ЦД без пломби відповідного строку спостереження. Причому вірогідної відмінності в мікробному навантаженні між цією та попередньою експериментальною групою встановлено не було. В свою чергу, на 6-й тиждень спостережень у тварин з поєднанням цукрового діабету і наявності фотополімерної пломби кількість мікроорганізмів в біоплівці на умовну одиницю площі ставала на 49 % більшою відповідного показника щурів із ЦД без пломбувального матеріалу на 6-й тиждень спостереження. Слід зауважити, що вірогідної відмінності в мікробному навантаженні між цією та попередньою експериментальною групою встановлено не було (див. табл. 4.4).

Стосовно **щурів із цукровим діабетом із встановленою цементною пломбою** то на 2-й тиждень після її встановлення кількість мікробних клітин на умовну одиницю площі біоплівки перевищувала відповідний показник щурів із цукровим діабетом без пломбувального матеріалу на 20,5 %, але була вірогідно нижче на 22,7 % за відповідний показник щурів із цукровим діабетом та фотополімерною пломбою. На 4-й тиждень спостережень кількість мікробних клітин в групі щурів із цементною пломбою на фоні цукрового діабету ставала вірогідно більшою на 19 % більше за показник щурів із 4-х тижневим ЦД, однак вірогідно меншою на 28 % відповідного показнику щурів із 4-х тижневим ЦД та фотополімерною пломбою. В той же час на 6-й тиждень спостережень щурів із ЦД та цементною пломбою

мікробне навантаження становило  $687 \pm 13,57$  клітин на умовну одиницю площі. Цей показник був вірогідно на 16 % більшим за показник групи із цукровим діабетом з відповідним строком спостереження, та вірогідно на 27 % менше за показник щурів із 6-ти тижневим ЦД та фотополімерною пломбою. Окремо слід зауважити що всередині групи щурів із цукровим діабетом та встановленою цементною пломбою на різних строках його перебігу статистичних відмінностей в показнику мікробного навантаження встановлено не було (див. табл. 4.4).

Таким чином, встановлення фотополімерного або цементного пломбувального матеріалу щурам із ЦД в усі строки спостереження супроводжувалося статистично більшим мікробним навантаженням у їх пародонті порівняно до тварин із цукровим діабетом без встановлених пломб. В той же час було відмічено, що мікробне навантаження у тварин із діабетом та цементною пломбою порівняно до щурів із ЦД та фотополімерною пломбою було статистично нижче у відповідні строки спостереження. Отже, результати проведеного дослідження будови епітелію ясен, розподілу ГАГ в ньому, а також інтенсивності накопичення вуглеводних полімерів у біоплівці та особливостей мікробного навантаження у експериментальних щурів показали ряд особливостей, що залежали від виду пломбувального матеріалу та наявності патологічного стану – цукрового діабету.

Комплексне дослідження та аналіз отриманих результатів показали, що в умовно здорових тварин наявність фотополімерного та цементного пломбувального матеріалів у різні строки спостереження не призводило до збільшення товщини епітелію ясен, проте збільшувало процеси його зроговіння. В той же час встановлена фотополімерна пломба у щурів з 2-о по 6-й тижні спостереження прогресивно зменшувала накопичення ГАГ. На відміну - встановлення цементної пломби не впливала на цей показник протягом усього періоду спостереження. Стосовно накопичуваності вуглеводних біополімерів в біоплівці то за результатами дослідження було

встановлено, що незалежно від виду пломбувального матеріалу цей показник прогресивно збільшується з 2-о по 6-й тижні спостереження. На мікробне навантаження пародонту у здорових щурів ні цементний ні фотополімерний пломбувальний матеріали суттєвого впливу не оказують.

В той же час, наявність цукрового діабету суттєво впливає на товщину епітелію, яка вірогідно перевищувала відповідний показник контрольних тварин, та посилює процеси зроговівання із лейкоцитарною інфільтрацією. В той же час інтенсивність накопичення досліджуваних майже всіх ГАГ у щурів із ЦД відносно контролю прогресивно зменшується з 2-о по 6-й тижні спостереження. Стосовно інтенсивності накопичення вуглеводних біополімерів у цієї групи експериментальних щурів, то слід відмітити її поступове збільшення на всіх строках спостереження. Паралельно з цим показник мікробного навантаження у щурів із ЦД статистично перевищував показник контролю і зростав в динаміці з 2-о по 6-й тиждень спостереження.

При встановленні фотополімерного або цементного пломбувальних матеріалів тваринам із цукровим діабетом було показано, що відносно тварин із ЦД пломбувальний матеріал не викликав зміни показнику товщини епітелію. Накопичення ГАГ прогресивно знижувалось лише у тварин ЦД та встановленою фотополімерною пломбою, але не з цементною. Крім того, у групі щурів із ЦД та встановленою фотополімерною пломбою спостерігалось прогресивне збільшення інтенсивності накопичення вуглеводних залишків порівняно із тваринами з ЦД без пломби, тоді як у групі щурів із цементною пломбою накопичення вуглеводних біополімерів в біоплівці було на рівні щурів із діабетом. В той же час, мікробне навантаження у групі тварин із експериментальним цукровим діабетом з цементним або фотополімерним пломбувальним матеріалами було вище за показники тварин із цукровим діабетом, проте перші мали статистично менше мікробне навантаження, ніж останні.

Результати розділу висвітлені у наукових працях автора: [138-144].

## РОЗДІЛ 5

### ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ ЛІМФОЇДНОЇ ТКАНИНИ, АСОЦІЙОВАНОЇ ЗІ СЛИЗОВОЮ ОБОЛОНКОЮ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ, У ЩУРІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ГРУП

Наведений розділі присвячений дослідженню особливостей будови асоційованої зі слизовою оболонкою ротової порожнини лімфоїдної тканини у групах щурів на 2-у, 4-у та 6-у тижнях після встановлення фотополімерної або цементної пломб, та у групах щурів із експериментальним цукровим діабетом із застосуванням фотополімерної або цементної пломб в ті ж самі строки. Оцінка антигенпрезентуючих клітин проводилася із використанням гістохімічного та лектингістохімічного методів.

#### **5.1 Характеристика LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючих клітин в епітелії та власній пластинці ясен тварин експериментальних груп**

В епітелії слизової оболонки ротової порожнини та в міжзубних ясневих сосочках функцію представлення антигену виконують клітини Лангерганса.

*У тварин контрольної групи* LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючі клітини розташовуються внутрішньоепітеліально переважно в базальному шарі, кількісні параметри клітин Лангерганса представлені в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1 – Особливості розподілу LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючих клітин в епітелії і власній пластинці ясен тварин експериментальних груп

Групи	Тиж.	LCA <sup>+</sup> -антигенпрезентуючи клітини					
		в епітелії			у власній пластинці		
		Морфо- метрія, мкм	Частота ум. од. площі	Щільність рецепторів до LCA <sup>+</sup> лектину	Морфо- метрія, мкм	Частота ум. од. площі	Щільність рецепторів до LCA <sup>+</sup> лектину
1	2	3	4	5	6	7	8
К		15,0±1,1	3,4±0,1	++	20,0±1,2	6,5±0,2	++
Ф	2-й	16,0±1,2	3,4±0,1	++	19,0±1,3	6,1±0,1	++
	4-й	17,0±1,4	3,6±0,2	++	18,0±1,3	6,0±0,6	++
	6-й	16,0±1,3	3,5±0,1	++	19,0±1,4	6,4±0,2	++
Ц	2-й	16,0±1,4	3,3±0,4	++	18,0±1,1	6,3±0,2	++
	4-й	16,0±1,1	3,6±0,1	++	18,0±1,2	6,0±0,1 <sup>1</sup>	++
	6-й	17,0±1,4	3,5±0,1	++	19,0±1,4	6,0±0,1 <sup>1,6</sup>	++
ЦД	2-й	16,0±1,4	3,8±0,1 <sup>1</sup>	++	18,0±1,4	6,7±0,1	++
	4-й	17,0±1,4	3,4±0,1	++	18,0±1,4	6,8±0,2	++
	6-й	16,0±1,3	3,1±0,2	++	19,0±1,3	6,9±0,2	++

Продовження таблиці 5.1							
1	2	3	4	5	6	7	8
ЦД+Ф	2-й	17,0±1,2	3,4±0,1 <sup>2</sup>	++	21,0±1,1	6,9±0,3 <sup>4</sup>	+++
	4-й	17,0±1,0	3,5±0,6	++	20,0±1,2	6,8±0,2	+++
	6-й	17,0±1,4	3,8±0,2 <sup>2</sup>	++	20,0±1,3	6,7±0,1	+++
ЦД+Ц	2-й	17,0±1,2	3,3±0,1 <sup>3</sup>	++	19,0±1,4	6,9±0,2 <sup>5</sup>	++
	4-й	16,0±1,3	3,4±0,1	++	19,0±1,4	6,7±0,4	++
	6-й	16,0±1,3	3,5±0,2	++	18,0±1,4	6,5±0,4	++

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

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 4. ( <sup>4</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ф.

Примітка 5. ( <sup>5</sup> ) – достовірна різниця показників Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.

Примітка 6. ( <sup>6</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи Ц.

Примітка 7. ( <sup>7</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц – достовірних відмінностей не виявлено.

Проведене дослідження показало, що LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючі клітини мають багатокутову форму через їх затиснутість серед епітеліальних клітин. У клітин виявляється декілька невеликих відростків, ядра безбарвні, а на цитоплазматичній мембрані візуалізуються нашарування коричневих часточок бензидину, що підтверджує наявність рецепторів до лектину сочевиці. Клітини локалізуються рівномірно в товщі епітелію в приблизному співвідношенні 1:30-40, тобто одна антигенпрезентуюча дендритна клітина Лангерганса на 30-40 епітеліальних клітин, що співвідносно 3-4 клітинам на умовну одиницю площі.

Крім епітелію, антигенпрезентуючі дендритні клітини також виявляються в рихлій волокнистій сполучній тканині власної пластинки та розташовуються поодинокі біля просвіту судин. Мають 5-6 відростків, з неправильною формою, безбарвним ядром. На цитоплазматичній мембрані виявлено рецептори до манози, тому клітина забарвлюється у коричневий колір. У власній пластинці тварин їх чисельність становить 6-7 клітин на умовну одиницю площі (рис. 5.1).



Рисунок 5.1 – LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючі клітини у власній пластинці ясен щура контрольної групи. Лектин-гістохімічний метод, зб. х 1000

***У тварин з фотополімерною пломбою*** на всіх строках спостереження розмір і кількість антигенпрезентуючих клітин в епітелії і власній пластинці статистично значущих змін порівняно до контролю не зазнали. Клітини так само, як і в контролі, були розташовані в базальному шарі епідермісу, мали



неправильну полігональну форму тіла і ядро неправильної форми, кількість відростків була така сама як в контролі. Інтенсивність накопичення бензидинової мітки (++) була така сама, як у тварин контрольної групи, тобто клітини Лангерганса знаходилися в однаковому морфофункціональному стані.

У власній пластинці LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючі клітини зазнали топографічних змін, розташовуючись в товщі власної пластинки, біля періодонту і альвеолярного відростку. Клітини мали витягнуту форму і відростки у кількості 4-5. Інтенсивність накопичення бензидинової мітки відповідала інтенсивності контролю в усіх строках спостереження (див. табл. 5.1).

*У тварин з цементною пломбою* на 2-й тиждень спостережень, топографія клітин Лангерганса в базальному шарі епідермісу відповідала топографії клітин всіх вище описаних груп. Клітини також мали типову зіркоподібну форму з 3-4 відростками. Достовірних змін кількості порівняно до контролю не виявлено. На 4-й тиждень спостережень клітини Лангерганса розташовувались в базальному шарі епідермісу, візуально щільніше і доволі часто попарно. Клітини, так само, мали багатокутову форму з 3-4 виходами відростків і ядром неправильної форми. Кількість LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючих клітини у власній пластинці була менша за контроль на 7,7 % (див. табл. 5.1).

На 6-у тиждні кількість цих клітин була незмінно меншою за контроль, а за топографією і морфофункціональним станом не відрізнялась від показників на попередні строки спостереження і від показників у тварин контрольної групи.

При порівнянні кількості LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючих клітин у щурів з цементною пломбою порівняно до групи з фотополімерним матеріалом виявлено достовірне зменшення на 6,3 % кількості клітин у власній пластинці лише на 6-у тиждні спостереження (див. табл. 5.1).

Необхідно зазначити, що щільність рецепторів до лектину сочевиці на всіх термінах дослідження у щурів груп із різним пломбувальним матеріалом, як фотополімерною так і цементною пломбами, була подібна до щільності рецепторів у тварин контрольної групи.

*При експериментальному цукровому діабеті* була відмічена подібна до контролю морфологія антигенпрезентуючих клітин в епітелії. Вони також мали неправильну форму, з гострими кутами, тіло було із 3-4 виходами відростків. Ядро мало неправильну форму. Антигенпрезентуючі клітини так само, як і у тварин групи контролю знаходилися в базальному шарі епітелію. Було виявлено порівняно до контролю статистичне достовірне збільшення кількості досліджуваних клітин на всіх строках спостереження, що перевищувало на 2-у тижні на 11,8 %, на – 4-му і 6-му – на 14,7 %. Наприкінці 2-о тижня спостереження було відмічено  $3,8 \pm 0,07$  клітин на умовну одиницю площі, а потім на 4-й і 6-й тижнях –  $3,4 \pm 0,07$  і  $3,1 \pm 0,15$ , відповідно (див. табл. 5.1).

При дослідженні власної пластинки було виявлено, що LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючі клітини розташовувалися поодинокі в товщі сполучної тканини, маючи неправильну форму тіла з 5-6 відростками, безбарвну цитоплазму та світло-зелені ядра. На всіх строках спостереження гістотопографічна характеристика не змінювалась, а кількісний параметр достовірно збільшився на 4-у тижні на 7,7 %, на 6-у – на 12,3 % (див. табл. 5.1).

Слід зазначити, що інтенсивність накопичення лектинової мітки не змінювалась порівняно до контролю (рис. 5.2).

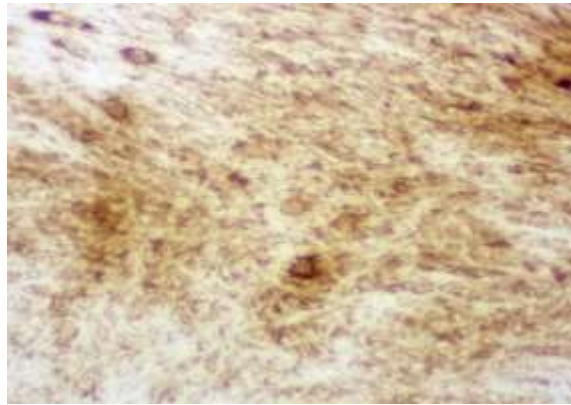


Рисунок 5.2 – LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючі клітини у власній пластинці ясен тварин з експериментальним цукровим діабетом, 2-й тиждень спостереження. Лектингістохімічний метод, зб. x 1000

У експериментальних тварин *із поєднанням цукрового діабету та наявністю пломби з фотополімером* на всіх строках спостереження морфологія клітин Лангергансу відповідала морфології і топографії клітин контрольної групи щурів, при цьому розміри статистично не змінювались, кількість відростків була така сама. Слід зазначити, що кількість досліджуваних клітин в епітелії достовірно збільшувалась на 14,7 % на 4-у тиждні і на 20,6 % на 6-у, порівняно до контролю (див. табл. 5.1).

За інтенсивністю накопичення бензидинової мітки клітини Лангергансу у епітелії не відрізнялися від подібних у щурів контрольної групи.

При дослідженні власної пластинки ясен LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючі клітини були виявлені переважно під маргінальним епітелієм вздовж періодонту. Варто зазначити, що кількість клітин була достовірно більшою порівняно до контролю на 4-у тиждні спостереження на 9,2 %, а на 6-у тиждні – на 12,3 % (див. табл. 5.1).

Цікавим було виявлене протягом всіх 3-х термінів спостереження (2-а, 4-а та 6-а тиждні) зростання інтенсивності накопичення рецепторів на цитоплазматичній мембрані до манози, через що клітини набували темно коричневого кольору (+++) (див. табл. 5.1).

При порівнянні досліджуваних параметрів цієї експериментальної групи до показників щурів із цукровим діабетом без втручання було виявлене достовірне зменшення кількості клітин Лангерганса на 10,5 % у епітелії ясен. А при порівнянні з тваринами з фотополімерною пломбою без діабету на 2-у тиждень виявлено збільшення на 13,1 %, тоді як на 6-у кількість досліджуваних клітин у обох шарах збільшувалась на 17,1 % і 14,1 % відповідно (див. табл. 5.1).

*У тварин групи з експериментальним цукровим діабетом і наявністю цементної пломби* морфологічна картина виявлення антигенпрезентуючих клітин відповідала картині гістологічних препаратів тварин контрольної групи. Було визначено, що клітини розташовувались в базальному шарі, мали 3-4 виходи відростків та зірчасту форму. Інколи вони виявлялися в шипуватому шарі. Дослідження показало, що кількість цих клітин достовірно збільшувалась порівняно до контролю лише на 4-й і 6-й тиждень спостереження порівняно до контролю, а саме на 4-му тиждень – на 8,8 % і на 17,6 % на 6-у (див. табл. 5.1).

При дослідженні власної пластинки відмічалось розташування антигенпрезентуючих клітин переважно в підепітеліальному прошарку власної пластинки. Клітини мали зірчасту, неправильну форму і неправильне ядро, кількість відростків складало в середньому 3-4. Варто відмітити, що кількість клітин достовірно збільшувалась порівняно до контролю на 6-й тиждень на 10,8 % (див. табл. 5.1).

Аналіз інтенсивності накопичення бензидинової мітки показав, що в препаратах досліджуваної групи вона повністю відповідала показникам контрольної групи, при цьому клітини мали коричневий колір в обох шарах (див. табл. 5.1).

При порівнянні кількісних параметрів у щурів цієї експериментальної групи і щурів з цукровим діабетом без пломбувального матеріалу статистично значущих відмінностей виявлено не було. При порівнянні до щурів з цементною пломбою без діабету виявлено достовірне збільшення

кількості LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючих клітин у епітелії і власній пластинці на 14,3 % і 20 % відповідно. При порівнянні показників щурів з пломбами встановленими на тлі цукрового діабету достовірні відмінності не виявлені (див. табл. 5.1).

Таким чином, базуючись на результатах аналізу показників морфо-функціональному стану і візуалізації антигенпрезентуючих клітин можна зробити висновок, що у тварин з фотополімерною пломбою, з цукровим діабетом, з поєднанням експериментального цукрового діабету і обох видах пломбувального матеріалу зростає функціональна активність даних клітин, що може призводити до активації імунної відповіді. У тварин з цементною пломбою показники морфо-функціонального стану антигенпрезентуючих клітин майже однакові з показниками тварин контрольної групи.

## **5.2 Особливості розподілу лімфоцитів в епітелії і власній пластинці ясен щурів експериментальних груп**

Візуальний аналіз мікрофотографій *у щурів контрольною групу* показав, що лімфоцити виявляються серед всіх шарів епітелію, зокрема зроговілих. Серед епітеліальних плісковатих клітин епітелію прикріплення, що орієнтовані паралельно поверхні зуба, виявлялися лімфоцити з широким обідком цитоплазми.

Слід зазначити, що у власній пластинці тварин групи контролю лімфоцити розташовувались дифузно, або утворювали невеликі скупчення з 3-5 лімфоцитів (рис. 5.3).

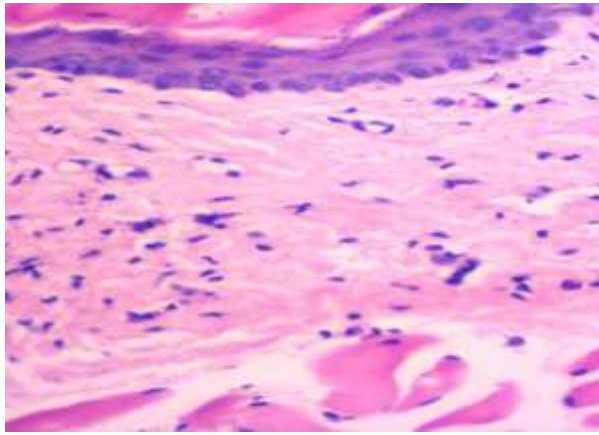


Рисунок 5.3 – Виявлення лімфоцитів у власній пластинці у тварин інтактної групи. ШІК-реакція, х 400

Загальна кількість лімфоцитів на ум. од. площі обох шарів «інтересу» представлена у таблиці 5.2.

Таблиця 5.2 – Особливості розподілу лімфоцитів в епітелії і власній пластинці ясен щурів експериментальних груп

Групи	Тиж.	Лімфоцити	
		Загальна кількість на ум. од. площі	
		В епітелії	У власній пластинці
1	2	3	4
К		$6,02 \pm 0,06^1$	$25,06 \pm 0,06^1$
Ф	2-й	$8,03 \pm 0,30^1$	$27,08 \pm 0,15^1$
	4-й	$8,01 \pm 0,19^1$	$27,01 \pm 0,06^1$
	6-й	$8,89 \pm 0,12^1$	$28,05 \pm 0,36$
Ц	2-й	$6,7 \pm 0,25^{1,6}$	$25,06 \pm 0,07^{1,6}$
	4-й	$7,01 \pm 0,07^{1,6}$	$26,04 \pm 0,14^6$
	6-й	$7,06 \pm 0,14^{1,6}$	$24,08 \pm 0,61^{1,6}$
ЦД	2-й	$7,04 \pm 0,07^1$	$26,09 \pm 0,07^1$
	4-й	$6,78 \pm 0,28^1$	$27,09 \pm 0,12^1$
	6-й	$6,98 \pm 0,21^1$	$26,78 \pm 0,26^{1,2}$
ЦД+Ф	2-й	$11,67 \pm 0,19^{1,2,4}$	$27,03 \pm 0,17^{1,2}$
	4-й	$12,03 \pm 0,05^{1,2,4}$	$28,08 \pm 0,08^{1,4}$
	6-й	$11,88 \pm 0,27^{1,2,4}$	$27,05 \pm 0,15^{1,4}$

Продовження таблиці 5.2			
1	2	3	4
ЦД+Ц	2-й	7,09±0,24 <sup>1,7</sup>	26,09±0,02 <sup>1,5,7</sup>
	4-й	8,1±0,09 <sup>1,3,5,7</sup>	27,06±0,07 <sup>1,5,7</sup>
	6-й	7,05±0,12 <sup>1,7</sup>	27,09±0,16 <sup>1,5</sup>

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

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 4. ( <sup>4</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ф.

Примітка 5. ( <sup>5</sup> ) – достовірна різниця показників Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.

Примітка 6. ( <sup>6</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи Ц.

Примітка 7. ( <sup>7</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.

**У щурів з наявністю фотополімерної пломби** порівняно до контролю статистичне значуще збільшення чисельності клітин виявлено на всіх строках спостереження, як у епітелії, так і у власній пластинці. В епітелії на 2-й тиждень кількість збільшувалась на 33,4 %, на 4-у – на 33,1 %, а на 6-у – на 47,7 % (див. табл. 5.2).

При наявності фотополімерної пломби лімфоцити локалізувалися внутрішньо-епітеліально в базальному і шипуватому шарах, мали правильну округлу форму.

Лімфоцити власної пластинки в значній кількості розташовувались під епітелієм вільного краю ясен. Їх кількість зростала протягом всіх строків спостереження починаючи з 2-х тижневого і до 6-о тижня, в порівнянні з контролем на 8,1 %, 7,8 % і 11,9 %, відповідно (див. табл. 5.2).

Між лімфоцитами спостерігалися клітинні кооперації із фібробластами, макрофагами та тучними клітинами. Також лімфоцити виявлялися в епітелії прикріплення.

**При наявності цементної пломби** топографія лімфоцитів відповідала картині контрольної групи (рис. 5.4).

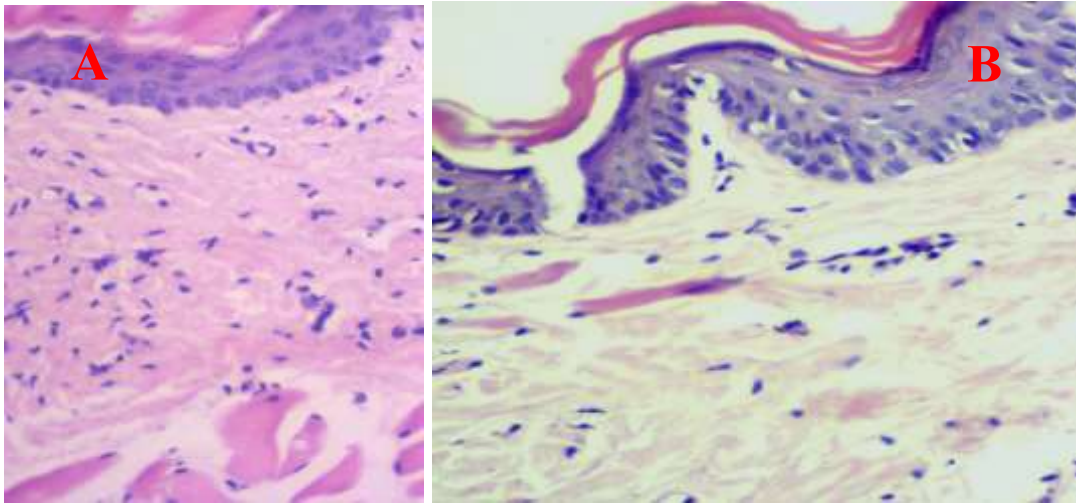


Рисунок 5.4 – Виявлення внутрішньо-епітеліальних лімфоцитів (А) і лімфоцитів у власній пластинці ясен (Б) у щурів з цементною пломбою.

Гематоксилін і еозин, х 400

Проведений статистичний аналіз показав, що кількість внутрішньо-епітеліальних лімфоцитів протягом всіх строків спостереження була більшою порівняно до контролю на 2-у тижні спостереження на 11,3 %, на 4-у – на 16,4 %, а на 6-у – на 17,3 % (див. табл. 5.2).

У власній пластинці ясен лімфоцити розташовані були переважно в сосочковому шарі (див. рис. 5.6). Їх кількість достовірно збільшувалась порівняно до контролю лише на 4-у тижні спостереження на 3,9 %. Порівняння показників кількості лімфоцитів в епітелії і у власній пластинці ясен виявило наступне: внутрішньо-епітеліальних лімфоцитів у щурів з цементною пломбою було достовірно менше за групу з фотополімером на 16,6 % на 2-у тижні, на 12,5 % – на 4-му і на 20,6 % – на 6-му. В той час кількість лімфоцитів, що локалізувалися у власній пластинці ставало менше на 7,5 %, 3,6 % і 14,2 % відповідно 2-у, 4-у і 6-у тижням (див. табл. 5.2).

Після **моделювання експериментального цукрового діабету** у щурів в тканинах пародонту лімфоцити розташовувались переважно в базальному шарі епітелію (рис. 5.5).



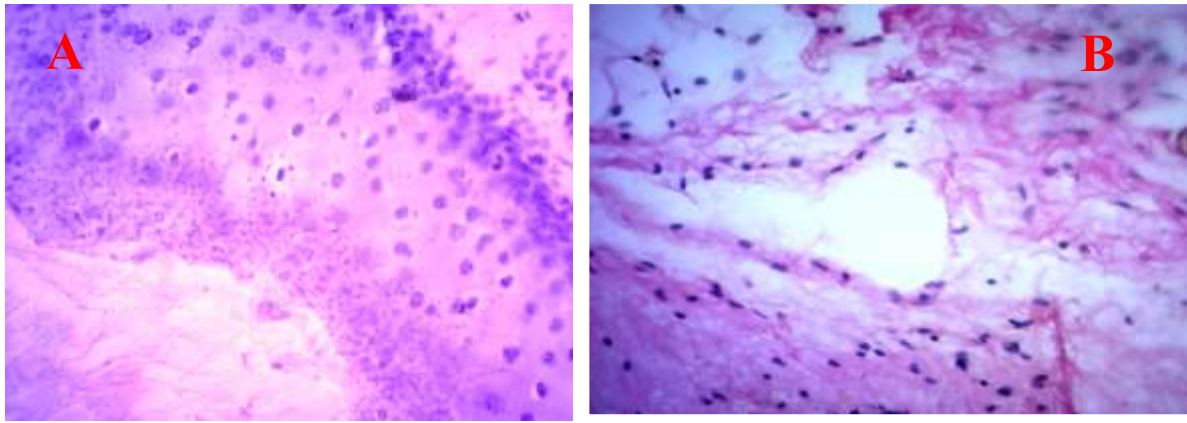


Рисунок 5.5 – Виявлення внутрішньо-епітеліальних лімфоцитів (А) і лімфоцитів у власній пластинці (Б) у тварин з експериментальним цукровим діабетом. Гематоксилін і еозин, х 400

Кількість внутрішньо-епітеліальних лімфоцитів на тлі цукрового діабету порівняно до контролю була достовірно більшою на 16,9 %, 12,6 % і 15,9 % відповідним строкам спостереження (див. табл. 5.2).

Лімфоцити власної пластинки розташовувались дифузно, або утворювали невеликі скупчення з 3-5 лімфоцитів. Вони, переважно, накопичувались під епітелієм вздовж періодонту навколо судин (див. рис. 5.7). Кількість їх, як і внутрішньо-епітеліальних, збільшувалась строкозалежно порівняно до контролю (4,1 %, 8,1 %, 6,9 %) на 2-у, 4-у та 6-у доби відповідно (див. табл. 5.1).

В групі щурів із поєднанням *цукрового діабету і фотополімерної пломби* кількість внутрішньо-епітеліальних клітин була більшою в порівнянні з тваринами контрольної групи. Візуальний аналіз показав, що лімфоцити були так само розташовані в базальному і шипуватому шарах, мали круглу або краплеподібну форми. Кількість лімфоцитів порівняно до контролю була більшою на 93,9 %, 99,8 % і 97,3 % відповідно на 2-у, 4-у і 6-у тижнях спостереження (див. табл. 5.2, рис. 5.6).

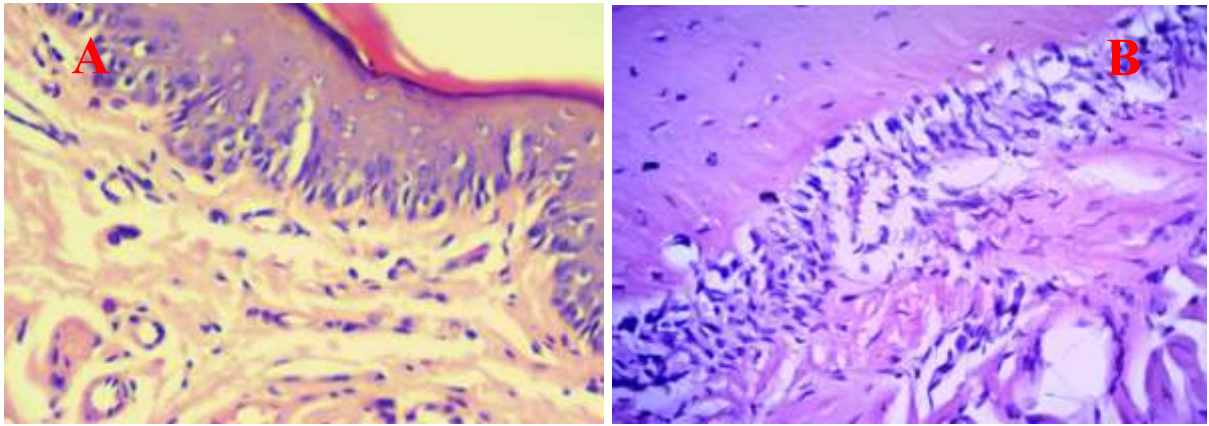


Рисунок 5.6 – Виявлення лімфоцитів в тканині пародонту (А) і в епітелії прикріплення (Б) у тварин з цукровим діабетом і наявністю фотополімерної пломби, на 2-у тижні спостереження. Гематоксилін і еозин, x 400

При дослідженні власної пластинки ясен візуально кількість лімфоцитів в підепітеліальній зоні і в сітчастому шарі була більшою, лімфоцитарні клітини виявлялися в тісному контакті з макрофагами та частіше розташовувались навколо пародонту. Кількість їх співвідносно строкам спостереження достовірно була більшою порівняно до контролю на 7,9 %, 12,1 % і 7,9 % на 2-у, 4-у та 6-у тижнях спостереження. При порівнянні показників кількості лімфоцитів в епітелії і власній пластинці щурів цієї групи з показниками щурів з цукровим діабетом було виявлено достовірне збільшення їх чисельності на 2-у тижні спостереження на 65,8 % і 3,6 % відповідно. На 4-у тижні ці показники склали вже 77,4 % і 3,7 %, а на 6-у тижні збільшення склало 70,2 %, причому змін зазнали лише внутрішньо-епітеліальні лімфоцити. У порівнянні з щурами з фотополімерним пломбувальним матеріалом зміни носили різноспрямований характер, при цьому кількість лімфоцити в епітелії збільшилась на всіх строках спостереження на 45,3 %, 50,2 % і 33,6 % відповідно, в той час як кількість лімфоцитів у власній пластинці ясен достовірно збільшувалась на 4-у тижні на 4,0 %, а на 6-у навпаки зменшувалась на 3,6 % (див. табл. 5.2).

У щурів групи при поєднанні *цукрового діабету і наявності цементної пломби* топографія і морфологія лімфоцитів відповідала показникам групи із змодельованим цукровим діабетом. У них кількість внутрішньо-епітеліальних лімфоцитів була достовірно більшою за контроль на 2-у тижні на 17,8 %, на 4-у – на 34,6 % і 6-му – на 17,1 % (див. табл. 5.2, рис. 5.7).

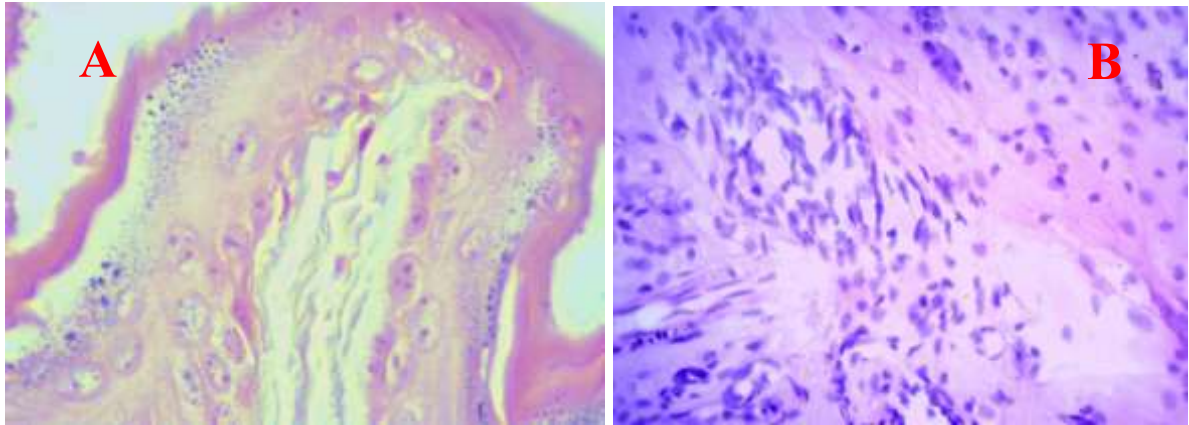


Рисунок 5.7 – Лімфоцити в підепітеліальній зоні ясен (А) і в зубо-ясневому прикріпленні (Б) у щурів з цукровим діабетом і наявністю цементної пломби, 2-й тиждень спостереження. Гематоксилін і еозин, зб. х 400

В групі щурів з експериментальним цукровим діабетом і наявністю цементної пломби лімфоцити в більшості розташовувались дифузно по товщині сполучної тканини власної пластинки ясен і вздовж зубо-ясневого прикріплення. Їх кількість була достовірно більшою за контроль на 4,1 %, 34,6 % і 8,1 % відповідно строкам спостереження. При порівнянні цієї експериментальної групи з цукровим діабетом без стоматологічних втручань статистично значущим було збільшення внутрішньо епітеліальних лімфоцитів на 19,5 % на 4-у тижні спостереження. Порівняння показників цієї групи до щурів з цементною пломбою виявило достовірне збільшення внутрішньо епітеліальних лімфоцитів лише на 4-у тижні на 15,5 %, тоді як кількість лімфоцитів, що локалізувалися у власній пластинці на 2-у тижні була більшою за контроль на 4,1 %, на 4-у – на 3,9 % і 6-у – на 12,5 %.

У випадку порівняння груп з різними пломбувальними матеріалами на тлі діабету було виявлено достовірне зменшення кількості лімфоцитів обох видів локалізації у щурів з поєднанням цементної пломби і діабету: перших на 39,2 %, 32,7 % та 40,7 %, а в других лише на 2-у тиждень на 3,5 % і 4-у на 3,6 % (див. табл. 5.2).

Таким чином проведене дослідження показало, що у щурів експериментальних груп загальні кількості лімфоцитів, як в епітелії, так і у власній пластинці ясен, були достовірно більшими порівняно до показників контрольної групи. Таке збільшення мало строкозалежність (більш високі показники відмічалися починаючи з 4-о тижня), а інтенсивність збільшення залежала від виду пломбувального матеріалу і наявності експериментального діабету. Необхідно зазначити, що кількість внутрішньо-епітеліальних лімфоцитів все ж таки була більшою за кількість у власній пластинці. Найбільша кількість лімфоцитів епітелію була виявлена у щурів з поєднанням фотополімерної пломби і цукрового діабету. В той час як показники кількості лімфоцитів власної пластинки у щурів усіх експериментальних груп були приблизно однакові між собою із незначним превалюванням кількості у щурів з поєднанням фотополімеру і діабету над значеннями щурів з діабетом, фотополімером без нього і щурів з поєднанням діабету і цементної пломби.

### **5.3 Особливості розподілу НРА<sup>+</sup>-лімфоцитів в епітелії і власній пластинці ясен щурів експериментальних груп**

*У щурів контрольної групи* дослідження НРА<sup>+</sup>-лімфоцитів, які ідентифікуються як цитотоксичні, показало, що вони розташовані переважно в базальному шарі епітелію, мають округлу або витягнуту форму. При постановці лектингістохімічної реакції з лектином виноградного слимака їх цитоплазма набувала коричневого кольору (рис. 5.8).

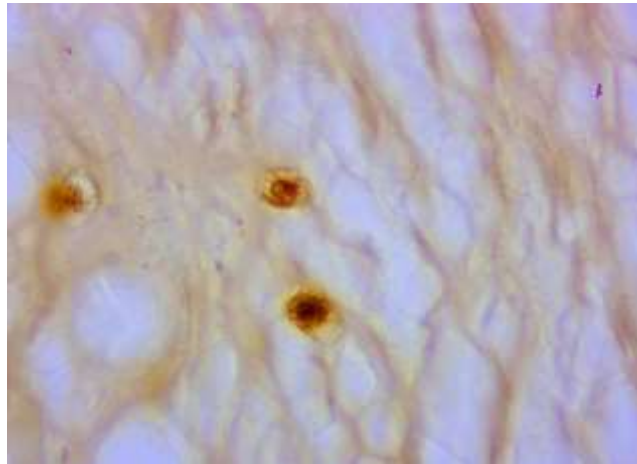


Рисунок 5.8 – Виявлення HRA<sup>+</sup>-цитотоксичних лімфоцитів у щурів контрольної групи. Лектингістохімічна реакція, x 1000

Загальна кількість HRA<sup>+</sup>-цитотоксичних лімфоцитів у щурів контрольної групи наведена у таблиці 5.3.

Таблиця 5.3 – Особливості розподілу HRA<sup>+</sup>-лімфоцитів в епітелії і власній пластинці ясен щурів експериментальних груп

Групи	Тиж.	HRA <sup>+</sup> -лімфоцити			
		В епітелії		У власній пластинці	
		Загальна кількість на ум. од. площі	Щільність рецепторів до лектину	Загальна кількість на ум. од. площі	Щільність рецепторів до лектину
1	2	3	4	5	6
К		3,9±0,2 <sup>1</sup>	++	11,0±0,2 <sup>1</sup>	++
Ф	2-й	6,9±0,2 <sup>1</sup>	++	8,0±0,1 <sup>1</sup>	++
	4-й	7,4±0,3 <sup>1</sup>	++	8,9±0,6 <sup>1</sup>	++
	6-й	7,8±0,2 <sup>1</sup>	++	7,1±0,1 <sup>1</sup>	++
Ц	2-й	3,0±0,2 <sup>1,6</sup>	++	10,0±0,2 <sup>1,6</sup>	++
	4-й	3,4±0,2 <sup>1,6</sup>	++	9,1±0,1 <sup>1</sup>	++
	6-й	3,7±0,5 <sup>1,6</sup>	++	9,1±0,1 <sup>1,6</sup>	++
ЦД	2-й	4,0±0,4 <sup>1</sup>	++	7,1±0,1 <sup>1</sup>	++
	4-й	4,0±0,2 <sup>1</sup>	++	6,1±0,1 <sup>1</sup>	++
	6-й	4,4±0,3 <sup>1</sup>	++	6,0±0,1 <sup>1</sup>	++
ЦД+Ф	2-й	4,5±0,2 <sup>1,4</sup>	++	11,8±0,1 <sup>1,2,4</sup>	++
	4-й	3,5±0,2 <sup>1,4</sup>	++	11,1±0,8 <sup>2,4</sup>	++
	6-й	3,0±0,3 <sup>1,2,4</sup>	++	9,1±0,2 <sup>1,2,4</sup>	++

Продовження таблиці 5.3					
1	2	3	4	5	6
ЦД+Ц	2-й	4,0±0,1 <sup>1,5,7</sup>	++	8,0±0,3 <sup>1,3,5,7</sup>	++
	4-й	4,3±0,1 <sup>1,5,7</sup>	++	8,1±0,2 <sup>1,3,5,7</sup>	++
	6-й	4,6±0,1 <sup>1,7</sup>	++	7,1±0,2 <sup>1,3,5,7</sup>	++

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

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 4. ( <sup>4</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ф.

Примітка 5. ( <sup>5</sup> ) – достовірна різниця показників Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.

Примітка 6. ( <sup>6</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи Ц.

Примітка 7. ( <sup>7</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.

Проведений аналіз показав, що встановлення *фотополімерної пломби* призводило до збільшення кількості внутрішньо-епітеліальних НРА<sup>+</sup>-лімфоцитів протягом всіх строків спостереження, при цьому в порівнянні з тваринами контрольної групи на 2-у тижні їх було більше на 76,9 %, на 4-у тижні спостереження – на 89,7 % і на 6-у – на 100 %. За морфологією і топографією розташування ідентифіковані НРА<sup>+</sup>-позитивні лімфоцити були такі самі як у тварин контрольної групи (рис. 5.9).



Рисунок 5.9 – НРА<sup>+</sup>-цитотоксичні-лімфоцити в епітелії ясен тварин з фотополімерною пломбою. Лектингістохімічна реакція, х 400

Слід відмітити, що у щурів із встановленою фотополімерною пломбою кількість НРА<sup>+</sup>-цитотоксичних-лімфоцитів у власній пластинці була меншою порівняно до контролю на 27,2 %, 19,4 % і 36,1 % відповідно строкам спостереження (див. табл. 5.3).

Встановлення *пломби цементного походження* щурам не змінювало топографію розташування цитотоксичних лімфоцитів в епітелії ясен щурів відповідної експериментальної групи. При цьому їх кількість ставала меншою порівняно до контролю в епітелії на 21,8 %, 12,8 %, 6,4 % відповідно, тоді як ті, що локалізуються у власній пластинці – на 9,1 %, 17,9 % і 17,8 %. При порівнянні загальної кількості НРА<sup>+</sup>-лімфоцитів щурів з різними пломбувальними матеріалами було виявлено достовірне зменшення внутрішньо-епітеліальних лімфоцитів у щурів з цементною пломбою на 55,8 %, 54,1 % і 53,2 % відповідно строкам дослідження. В той час як у власній пластинці їх кількість навпаки збільшувалась на 2-й тиждень на 24,9 %, а на 6-й – на 28,6 % (див. табл. 5.3).

При *експериментальному цукровому діабеті* кількість НРА<sup>+</sup>-лімфоцитів в епітелії ясен на 2-у тиждні експерименту була більшою на 4,4 % в порівнянні з контролем, на 4-й тиждень спостереження – на 3,8 %, а на 6-й – на 11,5 %. У випадку з лімфоцитами, що локалізувалися у власній пластинці, то на всіх строках спостереження було характерним зменшення їх кількості порівняно до контролю на 36,1 %, 45,1 % і 45,4 % відповідно (див. табл. 5.3).

В групі тварин з поєднанням *цукрового діабету і наявністю фотополімерної пломби* кількість внутрішньо-епітеліальних НРА<sup>+</sup>-лімфоцитів була більшою за контроль на 2-му тиждні спостереження на 15,4 %, тоді як на 4-му і 6-му вивалене достовірне зменшення на 10,3 % і 21,8 % відповідно. Кількість лімфоцитів у власній пластинці порівняно до контролю статистично значущі зміни продемонструвало лише на 2-му тиждні більші за контроль на 6,7 %, тоді як на 6-му менша на 18 %. При порівнянні показників цієї групи з групою цукрового діабету кількість лімфоцитів власної пластинки достовірно збільшувалась на всіх строках дослідження

(66,9 %, 82,3 % і 50,1 %), тоді як внутрішньо-епітеліальні достовірно зменшились лише на 6-му тижні на 29,9 %. Порівняння з групою щурів з фотополімером без діабету виявило достовірне зменшення кількості лімфоцитів, що локалізуються в епітелії на 34,8 %, 52,7 % і 60,9 %, тоді як кількість лімфоцитів власної пластинки навпаки збільшується на 46,5 %, 24,2 %, 28,2 % співвідносно строкам спостереження.

В групі тварин з наявністю *експериментального цукрового діабету і встановленою цементною пломбою* показник кількості лімфоцитів, що були локалізовані в епітелії, перевищував контрольні значення на всіх строках спостереження на 3,8 %, 10,3 % і 16,7 % відповідно. У випадку лімфоцитів власної пластинки була виявлена протилежна достовірна картина зменшення їх кількості на 27,3 %, 27,0 % і 36,1 % (див. табл. 5.3).

При порівняння отриманих значень із показниками щурів з цукровим діабетом слід відмітити, що кількість лімфоцитів в епітелії достовірно не змінювалась, тоді як у власній пластинці вона була більшою на 13,7 %, 33 % і 16,9 %. Порівняння з групою щурів з виключно цементною пломбою виявило достовірне збільшення кількості клітин в епітелії на 32,8 % – на 2-у тижні і на 26,5 % – на 4-у. На відміну кількість лімфоцитів власної пластинки достовірно зменшувалась на всіх строках – на 20 %, 11 % і 22,4 % відповідно (див. табл. 5.3).

Не менш доцільним і показовим виявилось порівняння кількості НРА<sup>+</sup>-лімфоцитів груп з різними пломбувальними матеріалами на фоні цукрового діабету. Виявлено, що внутрішньо епітеліальних лімфоцитів було менше за значення групи щурів із фотополімерною пломбою на 10 % на 2-у тижні спостереження, а на 4-у і 6-у – на 22,9 % і 49,2 % відповідно. Кількість лімфоцитів власної пластинки була достовірно меншою порівняно до показників групи із фотополімером на тлі діабету на 31,8 %, 27,1 % та на 22,1 % відповідно строкам спостереження (див. табл. 5.3).

Результатами проведеного дослідження стали виявлені закономірності при порівнянні кількості НРА<sup>+</sup>-лімфоцитів в епітелії і власній пластинці ясен



щурів експериментальних груп і контролю, а саме збільшення кількості внутрішньо-епітеліально, але зменшення їх у власній пластинці. Такі топографічні і кількісні зміни можуть слугувати ознакою зростання цитотоксичного захисту та змінення регуляторного потенціалу в процесі росту і відновлення слизової оболонки. Більше того, зміни кількості внутрішньо-епітеліальних  $\text{HPA}^+$ -лімфоцитів мали залежність від виду пдомбувального матеріалу (збільшення їх у щурів з фотополімерним матеріалом майже в 2 рази порівняно до цементної пломби) і ускладненості цукровим діабетом. У випадку останнього зміни були не однозначні, так при порівнянні показників щурів з поєднанням фотополімеру і діабету з групою з фотополімером і щурів з цукровим діабетом було виявлено, що при поєднанні втручань кількість  $\text{HPA}^+$ -лімфоцитів зменшується. В той час як у випадку з цементною пломбою поєднання цього пдомбувального матеріалу з діабетом значно збільшує кількість  $\text{HPA}^+$ -лімфоцитів, як при порівнянні з діабетом і пломбою без нього, так і з фотополімерною пломбою. Кількість  $\text{HPA}^+$ -лімфоцитів власної пластинки щурів ставала значна більшою після модуляції діабету та при поєднанні його з різними пдомбувальними матеріалами, більше того при фотополімерному пдомбуванні ця кількість ставала значно більшою ніж у щурів з цементною пломбою.

#### **5.4 Особливості розподілу $\text{PNA}^+$ -лімфоцитів в епітелії і власній пластинці ясен щурів експериментальних груп**

*У щурів контрольної групи* у власній пластинці виявлено наявність імунологічно незрілих  $\text{PNA}^+$ -лімфоцитів, які розташовувались дифузно в сітчастому і сосочковому шарах.

Кількісні показники та щільність рецепторів до лектину арахісу на лімфоцитах представлені у таблиці 5.4.

Таблиця 5.4 – Особливості розподілу PNA<sup>+</sup>-лімфоцитів у власній пластинці ясен щурів експериментальних груп

Групи	Тиж.	PNA <sup>+</sup> -лімфоцити у власній пластинці	
		Загальна кількість на ум. од. площі	Щільність рецепторів до лектину
К		4,1±0,2	++
Ф	2-й	4,7±0,2 <sup>1</sup>	++
	4-й	6,1±0,2 <sup>1</sup>	++
	6-й	6,1±0,2	++
Ц	2-й	4,1±0,2 <sup>6</sup>	++
	4-й	4,0±0,2 <sup>6</sup>	++
	6-й	4,1±0,3 <sup>6</sup>	++
ЦД	2-й	5,0±0,3 <sup>1</sup>	++
	4-й	4,1±0,1	++
	6-й	7,0±0,2 <sup>1</sup>	++
ЦД+Ф	2-й	6,1±0,4 <sup>1,2,4</sup>	++
	4-й	6,1±0,3 <sup>1,2</sup>	++
	6-й	6,8±0,3 <sup>1</sup>	++
ЦД+Ц	2-й	4,0±0,2 <sup>3,7</sup>	++
	4-й	4,7±0,2 <sup>1,3,5,7</sup>	++
	6-й	4,2±0,2 <sup>3,7</sup>	++

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

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 4. ( <sup>4</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ф.

Примітка 5. ( <sup>5</sup> ) – достовірна різниця показників Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.

Примітка 6. ( <sup>6</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи Ц.

Примітка 7. ( <sup>7</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.

Аналіз цифрових значень показав, що у щурів з *фотополімерною пломбою* на всіх строках спостереження виявляється достовірно більша кількості PNA<sup>+</sup>-лімфоцитів порівняно до контролю на 15,3 %, 49,9 % і 49,4 %

відповідно. При цьому морфо-топографічні характеристики та ступінь інтенсивності накопичення лектинової мітки були не змінні порівняно до контролю на всіх строках спостереження (див. табл. 5.4).

PNA<sup>+</sup>-позитивні лімфоцити у щурів з **цементною пломбою** морфо-топографічно, лектингістохімічно і кількісно не зазнали достовірних змін порівняно до контролю. При порівнянні цієї групи з аналогічними показниками групи з фотополімером було виявлене статистичне значуще зменшення кількості лімфоцитів на 2-й тиждень на 12,6 %, на 4-й – на 33,9 % і 6-й – на 33,1 % (див. табл. 5.4).

У щурів на тлі сформованого експериментального **цукрового діабету** було виявлено достовірне збільшення кількості PNA<sup>+</sup>-лімфоцитів порівняно до контролю лише на 2-у – на 24,4 % і 6-у – на 72,3 % тижнях термінів спостереження (див. табл. 5.4).

Дослідження кількості PNA<sup>+</sup>-лімфоцити у щурів з **фотополімерною пломбою на тлі цукрового діабету** виявило їх достовірне збільшення порівняно до контролю на всіх строках спостереження, а саме на 49,6 %, 50,4% та 67,4 %, відповідно. Морфо-топографічних і лектингістохімічних особливостей у щурів цієї групи виявлено не було. При порівнянні показників цієї групи із значеннями щурів з цукровим діабетом виявило достовірне збільшення на 2-у тижні спостереження на 20,2 % і на 4-у – на 48,9 %. Тоді як при порівнянні з щурами з фотополімерною пломбою без діабету достовірне збільшення було виявлено лише на 2-у тижні на 29,8 % (див. табл. 5.4).

Кількісне дослідження PNA<sup>+</sup>-лімфоцитів у щурів з **цементною пломбою встановленої на фоні цукрового діабету** показало достовірні відмінності порівняно до контролю лише на 4-у тижні через збільшення на 15,3 %. Топографічна і морфологічна картини розташування лімфоцитів була схожою до контролю. Лектингістохімічна мітка накопичувалась без особливостей. Порівняння значень цієї групи з групою цукрового діабету виявило різноспрямовані зміни, так на 2-у і 6-у тижнях було характерне

зменшення на 20,6 % і 39,7 % відповідно, а на 4-у, навпаки, збільшення на 14,2 %. Порівняння з групою щурів з цементною пломбою без діабету продемонструвало статистично значуще збільшення на 12,6 %, 33,9 % та 33,1 % співвідносно строкам спостереження. При порівнянні груп з різними пломбувальними матеріалами на тлі цукрового діабету було виявлене достовірне зменшення кількості PNA<sup>+</sup>-лімфоцитів у щурів з цементною пломбою на всіх строках спостереження на 34,0 %, 23,3 % і 37,9 % відповідно (див. табл. 5.4).

Таким чином, проведений порівняльний аналіз результатів експерименту дав змогу стверджувати, що кількість PNA<sup>+</sup>-лімфоцитів у щурів всіх експериментальних груп в більшості строків спостереження була достовірно більшою за аналогічний показник контрольної групи. Порівняння показників щурів з фотополімерним пломбувальним матеріалом і цукровим діабетом з значеннями щурів з експериментальним діабетом, а також з результатами щурів з фотополімером без діабету виявило збільшення кількості PNA<sup>+</sup>-лімфоцитів саме при поєднаному втручанні. В той час як аналіз аналогічних порівняльних груп, але з цементним пломбувальним матеріалом виявив не настільки достовірні і однозначні результати. При цьому слід зазначити, що на тлі встановлення пломби і діабету кількість цих клітин збільшувалась, тоді як при порівнянні з діабетом результати були різноспрямовані. Співставивши показники щурів з різними пломбувальними матеріалами без діабету і на тлі нього достовірним і однозначним було збільшення кількості PNA<sup>+</sup>-лімфоцитів саме у щурів з фотополімером в обох випадках.

### **5.5 Характеристика SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів у власній пластинці ясен тварин експериментальних груп**

*У тварин контрольної групи SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцити, що несуть на цитоплазматичній мембрані рецептори до лектину сої, ідентифікуються*

відкладенням часточок бензидину коричневого кольору. SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцити в більшості розташовуються під епітелієм вільного краю, під епітелієм ясневої борозни і навколо судин (рис. 5.10).

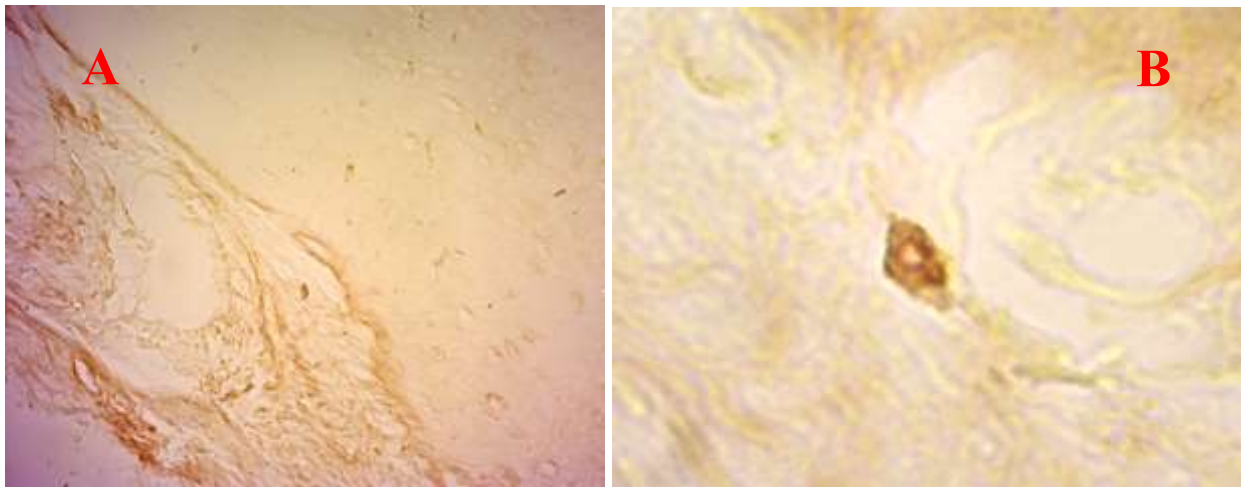


Рисунок 5.10 – Розподіл SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів у власній пластинці ясен у щурів контрольної групи. Лектингістохімічний метод: а) x 400; б) x 1000

Візуальний аналіз мікрофотографій показав, що у щурів контрольної групи у власній пластинці пародонту лімфоцити розташовуються поодинокі, не утворюючи скупчень. Кількість SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів у щурів контрольної групи представлена в таблиці 5.5.

Таблиця 5.5 – Особливості розподілу SBA<sup>+</sup>-лімфоцитів у власній пластинці ясен щурів експериментальних груп

Групи	Тиж.	SBA <sup>+</sup> -лімфоцити у власній пластинці	
		Загальна кількість на ум. од. площі	Щільність рецепторів до лектину
1	2	3	4
К		4,1±0,2	++
Ф	2-й	8,0±0,2 <sup>1</sup>	++
	4-й	9,0±0,1 <sup>1</sup>	++
	6-й	9,3±0,1 <sup>1</sup>	++
Ц	2-й	4,7±0,3 <sup>6</sup>	++
	4-й	4,6±0,2 <sup>1,6</sup>	++
	6-й	4,6±0,3 <sup>6</sup>	++

Продовження таблиці 5.5			
1	2	3	4
ЦД	2-й	8,1±0,3 <sup>1</sup>	++
	4-й	8,3±0,1 <sup>1</sup>	++
	6-й	9,0±0,3 <sup>1</sup>	++
ЦД+Ф	2-й	12,1±0,2 <sup>1,2,4</sup>	++
	4-й	15,0±0,1 <sup>1,2,4</sup>	++
	6-й	15,0±0,06 <sup>1,2,4</sup>	++
ЦД+Ц	2-й	10,0±0,1 <sup>1,3,5,7</sup>	++
	4-й	9,0±0,1 <sup>1,3,5,7</sup>	++
	6-й	10,0±0,1 <sup>1,3,5,7</sup>	++

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

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 4. ( <sup>4</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ф.

Примітка 5. ( <sup>5</sup> ) – достовірна різниця показників Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.

Примітка 6. ( <sup>6</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи Ц.

Примітка 7. ( <sup>7</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.

Дослідження показало, що після встановлення **фотополімерної пломби** кількість SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів значно зростає в порівнянні з контрольної інтактної групи на 97,3 % на 2-й тиждень спостереження, на 121,9 % на 4-й і на 129,2 % – на 6-й. Не зважаючи на суттєве збільшення їх кількості топографія SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів залишається такою самою, як в групі контрольних тварин (див. табл. 5.5).

Після встановлення **цементної пломби** експериментальним щурам кількість SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів і їх топографія суттєво не змінюється та майже не має достовірних відмінностей від значень щурів контрольної групи. Єдина відмінність відмічалася лише на 4-у тижні спостереження коли їх кількість достовірно збільшувалась на 13,3 % (див. табл. 5.5).

Порівняння показників цієї групи з значеннями групи щурів із фотополімерною пломбою показало значне достовірне зменшення кількісних показників на 41,8 %, 48,9 % і 50,6 % згідно відповідним строкам спостереження (див. табл. 5.5).

Результатом моделювання *експериментального цукрового діабету* стало збільшення кількості SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів майже вдвічі, ніж в контролі: на 2-у тижні на 98,8 %, на 4-у – на 104,7 % і на 6-у – на 121,1 %. Візуальний аналіз отриманих препаратів показав, що SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцити були розташовані у власній пластинці навколо судин, вздовж ясеневі борозни і під епітелієм вільного краю ясен (див. табл. 5.5).

При поєднанні встановленого *фотополімеру та індукованого цукрового діабету* кількість SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів ставала достовірно більшою за контроль, при цьому на 2-у тижні переважання складало на 196,6 %, на 4-у – на 268,6 % і на 6-у – на 268,3 % (див. табл. 5.5, рис. 5.11).

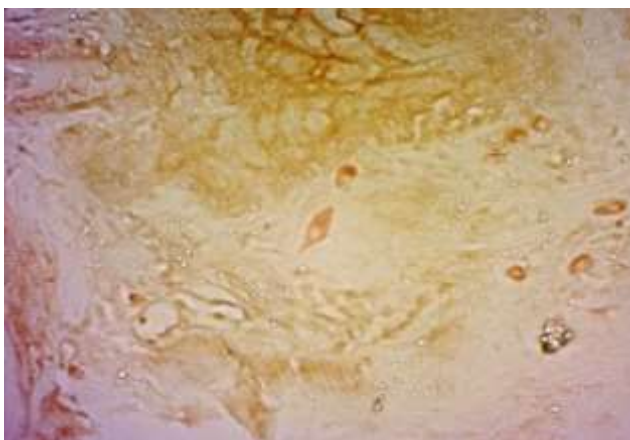


Рисунок 5.11– Розподіл SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів у власній пластинці у щурів з цукровим діабетом і наявністю фотополімерної пломби.

Лектингістохімічний метод, x 1000

Порівняння середнього значення чисельності SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів у щурів групи з фотополімером і діабетом з групою цукрового діабету було виявлене достовірне збільшення кількості клітин на 49,2 %, 80,1 % і 66,6 % відповідно на 2-у, 4-у і 6-у тижнях спостереження. Цифри збільшення кількості лімфоцитів при порівнянні цієї експериментальної групи з групою

фотополімерної пломби були близькі до попереднього порівняння та на 2-у тижні переважали на 50,3 %, на 4-у – на 66,1 % і на 6-у – на 60,7 % (див. табл. 5.5).

В групі експериментальних щурів у яких були поєднанні експериментальний *цукровий діабет і встановлення цементної пломби* кількість SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів достовірно була більшою за контроль на 146,7 %, 121,1 % і 145,9 % відповідно строкам спостереження. Порівнявши показники загальної кількості SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів у щурів цієї експериментальної групи з групою експериментального діабету було також виявлене достовірне збільшення на 24,1 %, 8,0 % і 11,2 % відповідно строкам дослідження. В той час, як порівняння з групою щурів з цементною пломбою на 2-у тижні показало збільшення чисельності досліджуваних клітин на 115 %, на 4-у – на 95,2 % і на 6-у – на 117,1 %. Порівняння впливу різних пломбувальних матеріалів на тлі цукрового діабету виявило зменшення кількості досліджуваних клітин на 16,8 % – на 2-у, на 40 % – на 4-у і на 33,2 % – на 6-у тижнях (див. табл. 5.5).

Підсумовуючи отримані результати слід зазначити, що у щурів всіх експериментальних груп виявлене загальне збільшення кількості SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів порівняно до контролю, вираженість встановленого збільшення мала строкозалежність. Порівняльний аналіз результатів групи з цукровим діабетом і щурів з різними пломбувальними матеріалами поєднаними з діабетом показав достовірне збільшення кількості SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів на тлі поєднаного втручання. Окремо необхідно відмітити значне збільшення майже в 2-3 рази кількості цих клітин у щурів з пломбами різного походження і діабету, що продемонструвало порівняння з групами щурів з різними пломбами без діабету. Цікавими були отримані дані збільшення кількості SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів у щурів з фотополімером при порівнянні з цементною пломбою, що продублювалось і при порівнянні тих самих пломб на тлі діабету.



## 5.6 Характеристика В<sub>1</sub>-лімфоцитів у власній пластинці ясен тварин експериментальних груп

Сьогодні вже добре відомо, що В<sub>1</sub>-лімфоцити синтезують основний клас антитіл - IgA, які і виступають рецепторами даних Con A<sup>+</sup>, SBA<sup>+</sup>-В<sub>1</sub>-лімфоцитів. Відповідно В-лімфоцити, що несуть рецептори до лектину конконоваліну А і сої ідентифікуються як Con A<sup>+</sup>, SBA<sup>+</sup>-В<sub>1</sub>-лімфоцити. На клітинній мембрані знаходяться нашарування часточок бензидину коричневого і зеленого кольору – що є ознакою В<sub>1</sub>-лімфоцитів.

В ході дослідження у *тварин контрольної групи* було встановлено, що Con A<sup>+</sup>, SBA<sup>+</sup>-В<sub>1</sub>-лімфоцити локалізуються переважно у власній пластинці під епітелієм прикріплення та під базальною мембраною.

Динаміка кількості Con A<sup>+</sup>, SBA<sup>+</sup>-В<sub>1</sub>-лімфоцитів у власній пластинці щурів експериментальних груп представлено у таблиці 5.6.

Таблиця 5.6 – Особливості розподілу Con A<sup>+</sup>, SBA<sup>+</sup>-В<sub>1</sub>-лімфоцитів у власній пластинці ясен щурів експериментальних груп

Групи	Тиж.	В <sub>1</sub> -лімфоцити у власній пластинці	
		Загальна кількість на ум. од. площі	Щільність рецепторів до лектину
1	2	3	4
К		2,0±0,7	++
Ф	2-й	2,7±0,2	++
	4-й	3,0±0,2	++
	6-й	6,0±0,2 <sup>1</sup>	++
Ц	2-й	2,0±0,1 <sup>6</sup>	++
	4-й	2,5±0,1 <sup>6</sup>	++
	6-й	4,9±0,2 <sup>1,6</sup>	++
ЦД	2-й	3,5±0,3	++
	4-й	5,0±0,2 <sup>1</sup>	++
	6-й	5,6±0,2 <sup>1</sup>	++
ЦД+Ф	2-й	4,0±0,1 <sup>1,4</sup>	++
	4-й	4,7±0,2 <sup>1,4</sup>	++
	6-й	5,8±0,2 <sup>1</sup>	++

Продовження таблиці 5.6			
1	2	3	4
ЦД+Ц	2-й	2,0±0,1 <sup>3,7</sup>	++
	4-й	3,1±0,1 <sup>3,5,7</sup>	++
	6-й	5,1±0,1 <sup>1,3,7</sup>	++

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

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД – достовірних відмінностей не виявлено.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 4. ( <sup>4</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ф.

Примітка 5. ( <sup>5</sup> ) – достовірна різниця показників Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.

Примітка 6. ( <sup>6</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи Ц.

Примітка 7. ( <sup>7</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.

При наявності **фотополімерного пломбувального матеріалу** у щурів кількість  $Con A^+$ ,  $SBA^+V_1$ -лімфоцитів достовірно ставала достовірно більшою порівняно до контролю лише на 6-у тижні спостереження на 199 % (див. табл. 5.6).

Встановлення **цементної пломби** щурам, також як і в попередній експериментальній групі, достовірно збільшувало кількість  $Con A^+$ ,  $SBA^+V_1$ -лімфоцитів порівняно до контролю лише на 6-у тижні на 142,1 %. Порівняння кількості цих клітин між групами з різним пломбувальним матеріалом виявило достовірне їх зменшення на всіх 3- строках спостереження у щурів з цементною пломбою на 23,2 %, 17,8 % і 19 % відповідно (див. табл. 5.6).

При **експериментальному цукровому діабеті** кількість  $Con A^+$ ,  $SBA^+V_1$ -лімфоцитів у власній пластинці щурів зростає в порівнянні з групою контролю на 4-у і 6-у тижнях експерименту на 146,5 % і 178,7 % відповідно. При цьому топографія залишається у них така сама, як у тварин контрольної групи – під базальною мембраною епідермісу та навколо судин (див. табл. 5.6).

При дослідженні вивчаємих параметрів групи тварин з **цукровим діабетом і наявністю фотополімерної пломби** кількість  $\text{Con A}^+$ ,  $\text{SBA}^+\text{-B}_1$ -лімфоцитів збільшувалась на 98,5 %, 131,2 % і 187,1 % відповідно строкам спостереження, порівняно до контролю. При порівнянні кількості цих клітин з кількістю подібних в групах з цукровим діабетом без стоматологічних втручань статистично значущих змін виявлено не було. Провівши порівняння з кількістю клітин у групі щурів з фотополімером без діабету було виявлено статистично значуще збільшення тільки на 2-у тижні на 50,2 % і на 4-у – на 56,7 % (див. табл. 5.6).

В групі тварин з **цукровим діабетом і наявністю цементної пломби** кількість  $\text{ConA}^+$ ,  $\text{SBA}^+\text{-B}_1$ -лімфоцитів у власній пластинці була достовірно більшою порівняно до контролю лише на 6-у тижні на 150 %. Порівняння з аналогічним показником групи з цукровим діабетом було виявлено достовірне зменшення показника на 2-у тижні на 41,2 %, на 4-у – на 38,2 % і на 6-у – на 10,3 %. Порівняльне вивчення показників кількості цих клітин з групою щурів з цементним пломбувальним матеріалом без діабету показало статистично значуще збільшення лише на 4-у тижні спостереження на 25,7 %. Порівняння кількості цих клітин між групами з різним пломбувальним матеріалом на тлі експериментального цукрового діабету виявило достовірне зменшення на всіх 3-х строках спостереження у щурів з цементною пломбою на 49,4 %, 34 % і 12,9 % відповідно (див. табл. 5.6).

Таким чином, слід зазначити, що в порівнянні до контрольних показників кількість  $\text{ConA}^+$ ,  $\text{SBA}^+\text{-B}_1$ -лімфоцитів у власній пластинці ясен щурів всіх експериментальних груп була значно більшою, особливо к 6-у тижню спостереження майже в 3 рази. Порівняння показника у щурів з різним пломбувальним матеріалом виявило збільшення кількості цих клітин у щурів з фотополімером майже на 20 % порівняно до значень щурів з цементною пломбою. Слід зазначити, що аналогічні матеріали на тлі діабету повторили тенденцію, так у щурів з фотополімером на тлі діабету кількість  $\text{ConA}^+$ ,  $\text{SBA}^+\text{-B}_1$ -лімфоцитів була більшою в середньому на 32 % (середній

показник за всі строки). Порівнюючи результати щурів з діабетом і щурів з різними пломбувальними матеріалами на тлі діабету, статистично значущим були зміни лише у щурів з цементною пломбою, в яких було виявлено зменшення кількості  $ConA^+$ ,  $SBA^+$ - $B_1$ -лімфоцитів в середньому на 30 %. Попарне порівняння кількісних значень щурів з пломбою та аналогічною пломбою на тлі діабету показало достовірні відмінності у щурів з цементними пломбами лише на 6-у тижні (у щурів з діабетом і пломбою більше на 25 %), а при фотополімерних пломбах, у щурів з поєднанням пломби і діабету кількість клітин була більшою на 2-у і 4-у тижнях майже у 2 рази (див. табл. 5.6).

### 5.7 Імуногістохімічна характеристика лімфоцитів у власній пластинці ясен тварин експериментальних груп

Загальна імуногістохімічна характеристика лімфоцитів у власній пластинці ясен щурів експериментальних груп представлена у таблиці 5.7.

Таблиця 5.7 – Імуногістохімічна характеристика лімфоцитів у власній пластинці ясен щурів експериментальних груп

Групи	Тиж.	Загальна кількість на ум. од. площі			
		CD5 <sup>+</sup>	CD20 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>
1	2	3	4	5	6
К		5,5±0,6	6,1±0,6	7,6±1,0	3,7±0,6
Ф	2-й	6,0±0,4	7,5±0,5	7,3±0,7	4,8±0,5
	4-й	6,3±0,4	7,5±0,6	8,2±0,6	5,4±0,6 <sup>1</sup>
	6-й	6,9±0,4 <sup>1</sup>	8,0±0,2 <sup>1</sup>	7,3±0,7	5,2±0,8
Ц	2-й	5,7±0,4	6,8±0,6	7,3±0,6	3,5±0,5
	4-й	6,6±0,7	7,7±0,5 <sup>1</sup>	7,2±0,6	4,1±0,4
	6-й	6,6±0,7	8,4±0,5 <sup>1</sup>	7,5±0,7	4,8±0,5
ЦД	2-й	6,3±0,7	8,4±0,5 <sup>1</sup>	7,8±0,5	5,6±0,6 <sup>1</sup>
	4-й	6,6±0,9	8,3±0,4 <sup>1</sup>	8,8±0,2	6,8±1,1 <sup>1</sup>
	6-й	7,5±0,5 <sup>1</sup>	8,6±0,5 <sup>1</sup>	8,9±0,3	7,8±0,3 <sup>1</sup>

Продовження таблиці 5.7					
1	2	3	4	5	6
ЦД+Ф	2-й	7,6±0,7 <sup>1</sup>	8,1±0,5 <sup>1</sup>	8,5±0,5	7,2±0,8 <sup>1,2,4</sup>
	4-й	7,6±0,5 <sup>1</sup>	8,1±0,4 <sup>1</sup>	8,4±0,5	7,1±0,5 <sup>1,4</sup>
	6-й	8,2±0,5 <sup>1,4</sup>	8,5±0,5 <sup>1</sup>	8,7±0,4	7,4±0,7 <sup>1,4</sup>
ЦД+Ц	2-й	6,9±0,7	6,5±0,5 <sup>3,7</sup>	7,5±0,7	4,6±0,5 <sup>7</sup>
	4-й	6,1±0,7	7,2±0,6	8,2±0,5	6,1±0,2 <sup>1,5</sup>
	6-й	7,1±0,3 <sup>1</sup>	7,3±0,7	8,6±0,5	5,8±0,8 <sup>1,3</sup>

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

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД.

Примітка 4. ( <sup>4</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ф.

Примітка 5. ( <sup>5</sup> ) – достовірна різниця показників Ц ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.

Примітка 6. ( <sup>6</sup> ) – достовірна різниця показників Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи Ц – достовірних відмінностей не виявлено.

Примітка 7. ( <sup>7</sup> ) – достовірна різниця показників ЦД+Ф ( $p_{st}<0,05$ ) відносно показників групи ЦД+Ц.

При імуногістохімічному дослідженні встановлено, що у тварин **контрольної групи** CD5<sup>+</sup>-лімфоцити мали середній діаметр і розташовувались у товщі власної пластинки, під базальною мембраною епітелію ясен і епітелію прикріплення. Лімфоцити локалізувалися поодинокі чи утворювали контакти з клітинами сполучної тканини (табл. 5.7, рис. 5.12).

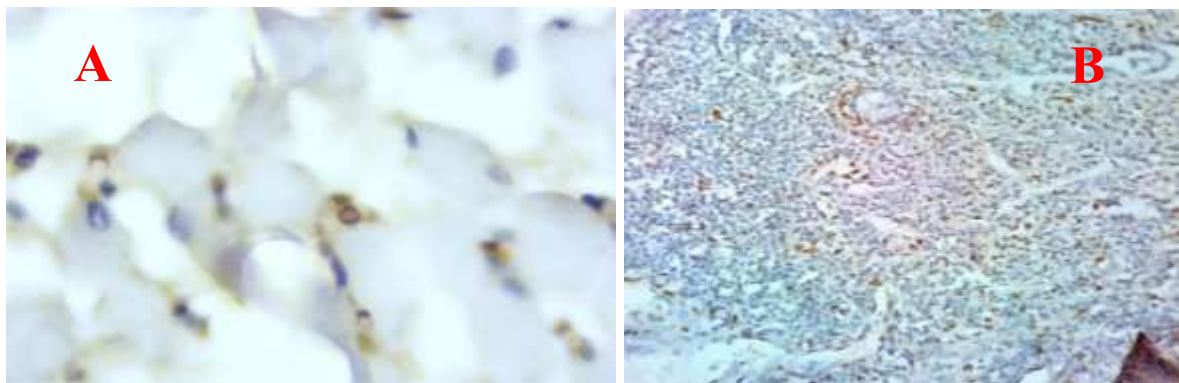


Рисунок 5.12 – Розподіл CD5<sup>+</sup>-лімфоцитів (А) і CD20<sup>+</sup>-лімфоцитів (Б) у власній пластинці ясен щурів інтактної групи. Імуногістохімічний метод: А)

х 1000, Б) х 400

Дослідження розподілу CD20<sup>+</sup>-лімфоцитів у *контрольних щурів* показало, що вони розташовуються у власній пластинці ясен, під епітелієм, навколо епітелію борозни та біля судин. Бензидинові нашарування відкладаються на поверхні цитоплазматичної мембрани (див. рис. 5.12).

Візуальний аналіз показав, що на тлі загальної кількості лімфоцитів у щурів контрольної групи переважають Т-лімфоцити, які представлені CD4<sup>+</sup> та CD8<sup>+</sup>-лімфоцитами. Цитотоксичні CD8<sup>+</sup>-лімфоцити зустрічаються як внутрішньо-епітеліально, так і в товщі власної пластинки, переважно, навколо судин (див. табл. 5.7, рис. 5.13).

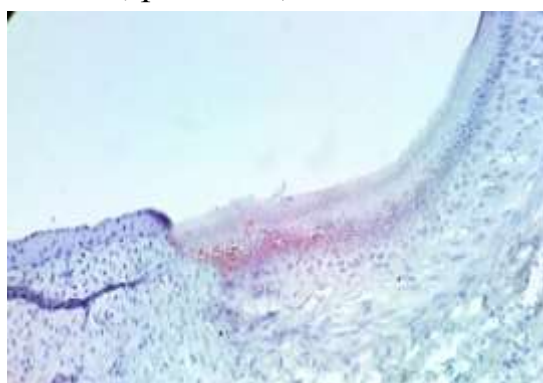


Рисунок 5.13 – Розподіл CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів в епітелії прикріплення щурів контрольної групи. Імуногістохімічний метод, x400

У тварин контрольної групи CD4<sup>+</sup>-лімфоцити поодинокі зустрічаються в товщі власної пластинки (див. табл. 5.7, рис. 5.14).

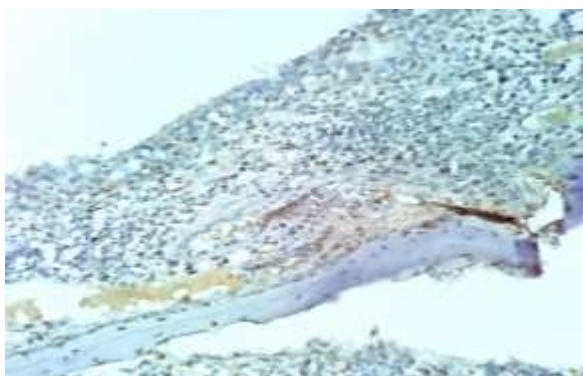


Рисунок 5.14 – Розподіл CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів у власній пластинці щурів контрольної групи. Імуногістохімічний метод, x400

При наявності *фотополімерної пломби* порівняно до контролю достовірне збільшення кількості CD5<sup>+</sup>-лімфоцитів було виявлене лише на 6-й тиждень спостереження на 25,5 %, як і кількості CD20<sup>+</sup>-лімфоцитів на 31,6 %, разом з CD8<sup>+</sup>-лімфоцитами на 15,8 %. Тоді як порівняння кількості CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів показало достовірне їх збільшення на 45,9 % на 4-у тиждень спостереження (див. табл. 5.7).

При наявності *цементної пломби* у експериментальних щурів показники кількості CD5<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>- і CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів статистично не відрізнялися від відповідних показників тварин контрольної групи, а кількість CD20<sup>+</sup> показала збільшення на 26,6 % на 4-й тиждень спостереження і на 38,2 % – на 6-й (див. табл. 5.7).

Порівняння кількості різних лімфоцитів цієї групи з групою щурів з фотополімером статистично значущих відмінностей не виявило (див. табл. 5.7).

В групі щурів із сформованим *цукровим діабетом* при імуногістохімічному дослідженні було встановлено достовірне зростання кількості CD5<sup>+</sup>-лімфоцитів на 6-у тиждень спостереження на 36,4 %, при цьому лімфоцити розташовувалися поодинокі та дифузні під базальною мембраною епітелію (рис. 5.15).

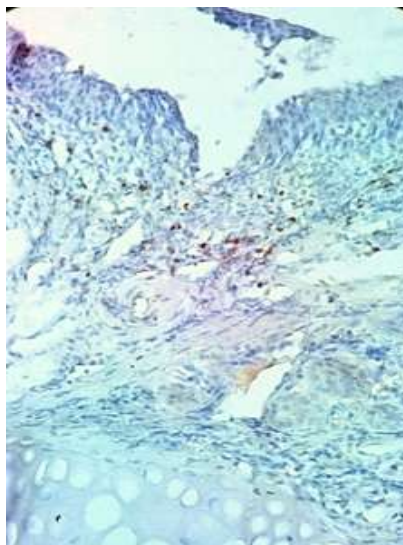


Рисунок 5.15 – Розподіл CD5<sup>+</sup>-лімфоцитів у власній пластинці ясен щурів з цукровим діабетом. Імуногістохімічний метод, x 400

В той час як кількість  $CD20^+$  була більшою на всіх строках спостереження порівняно до контролю на 38,2 %, 36,5 % і 41,4 % відповідно.  $CD8^+$ -лімфоцити показали збільшення чисельності на 4-у і 6-у тижнях спостереження на 15,8 % і 17,1 % відповідно (рис. 5.16)..

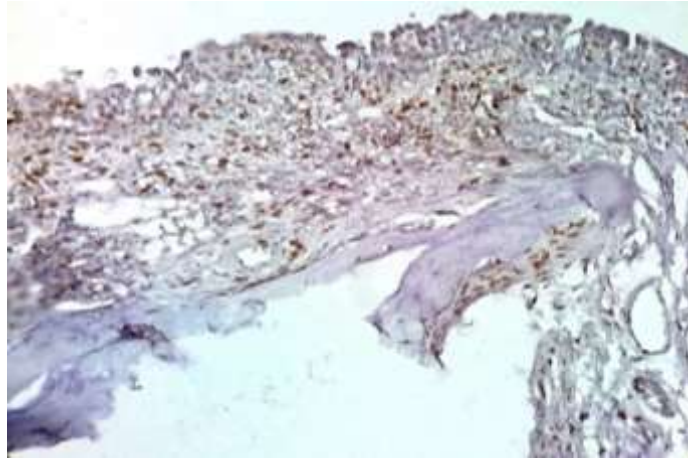


Рисунок 5.16 – Розподіл  $CD8^+$ -лімфоцитів (Б) у власній пластинці ясен щурів з цукровим діабетом. Імуногістохімічний метод, х 400

У випадку з кількістю  $CD4^+$ -клітин виявлено достовірне збільшення на 2-у тижні на 51,4 %, на 4-у – на 83,8 % і на 6-у – на 110,8 % (див. табл. 5.7)

При поєднанні *цукрового діабету і наявності фотополімерної пломби* кількість  $CD5^+$ -лімфоцитів порівняно до контролю була достовірно більшою протягом всіх строків спостереження на 38,2 %, 38,2 % і 49,1 % відповідно.  $CD20^+$ -клітини також як і попередні, були достовірно чисельно більшими на всіх строках: на 2-у і 4-у – на 33,2 % і на 6-у – на 39,8 %. У випадку  $CD8^+$  імунопозитивних лімфоцитів статистично значущих змін зазнала лише їх кількість на 14,5 %. В той час як кількість  $CD4^+$ -лімфоцити була достовірно більшою за контроль на 2-у тижні на 94,6 %, 4-у – на 91,9 % і 6-му – на 100 % (див. табл. 5.7, рис. 5.17).



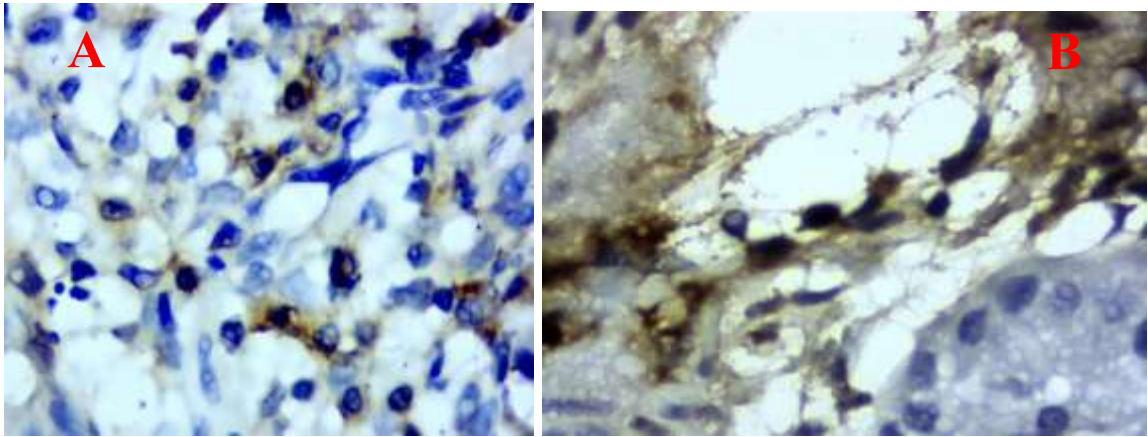


Рисунок 5.17 – Розподіл CD20<sup>+</sup>-лімфоцитів (А) і CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів (Б) у власній пластинці щурів при поєднанні експериментального цукрового діабету і фотополімерної пломби на 2-й тиждень спостереження. Імуногістохімічна реакція: А) зб. х 400, Б) зб. х 1000

Порівняння кількісних показників цієї експериментальної групи із значеннями групи із цукровим діабетом виявило статистично значуще збільшення лише CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів на 28,6 % на 2-у тиждні спостереження. В той час як порівняння з групою з фотополімерною пломбою показало достовірне збільшення CD5<sup>+</sup>-лімфоцитів лише на 6-у тиждні дослідження на 18,8 %, а кількість CD4<sup>+</sup> була більшою протягом всіх строків спостереження: на 2-у тиждні – на 50 %, на 4-у – на 31,5 % та на 6-у – на 42,3 % (див. табл. 5.7).

Наявність *цементної пломби на тлі цукрового діабету* достовірно підвищувала кількість CD5<sup>+</sup>-лімфоцитів порівняно до контролю лише на 6-у тиждні спостереження на 9,1 %. При дослідженні кількості CD20<sup>+</sup>-лімфоцитів порівняно до контролю статистично значущих відмінностей виявлено не було. Кількість CD8<sup>+</sup>-клітин достовірно збільшилась на 6-у тиждні спостереження на 13,2 % порівняно до контролю. Порівняння кількості CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів у щурів цієї групи з контролем продемонструвало достовірне збільшення їх на 4-у тиждні спостереження на 64,9 % і на 6-у – на 56,8 % (див. табл. 5.7).

Порівняння кількісних значень щурів цієї експериментальної групи з групою цукрового діабету виявило достовірне зменшення кількості CD20<sup>+</sup>-лімфоцитів на 22,6 % на 2-у тижні спостереження і CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів на 25,6 % на 6-у тижні. При порівнянні із значеннями щурів з цементною пломбою без діабету достовірне збільшення було лише кількості CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів на 48,8 % на 4-у добу спостереження. В той час як при порівняльному аналізі кількості CD20<sup>+</sup>- і CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів у щурів з цукровим діабетом і різними пломбувальними матеріалами було виявлено достовірне зменшення кількості вказаних лімфоцитів лише на 2-у тижні спостереження на 19,8 % і 36,1 % відповідно, а CD5<sup>+</sup>- і CD8<sup>+</sup>- лімфоцити статистично значуще не відрізнялися (див. табл. 5.7).

Таким чином, за результатами імуногістохімічної ідентифікації популяцій лімфоцитів з визначенням їх кількості було виявлено загальні закономірності впливів різних пломбувальних матеріалів на фоні норми і діабету. Порівняно до контролю у всіх щурів експериментальних груп на різних строках спостереження відмічалось збільшення кількості всіх 4-х типів лімфоцитів з максимальною їх кількістю на 6-у тижні дослідження. Достовірних відмінностей між кількістю лімфоцитів на тлі різних пломбувальних матеріалів виявлено не було, в той час як аналогічне порівняння впливів пломбувальних матеріалів на тлі цукрового діабету виявило статистичне значуще зменшення на 2-у тижні спостереження кількості CD20<sup>+</sup>- і CD4<sup>+</sup>- лімфоцитів у щурів з цементною пломбою порівняно до фотополімеру. Цікавими знахідками було виявлення зменшення на 22,6 % кількості CD20<sup>+</sup>-лімфоцитів у щурів з цементною пломбою на тлі діабету на 2-й тиждень спостереження порівняно до аналогічного строку в щурів з цукровим діабетом, але подальші зміни їх чисельності не були статистично значущі. Такою самою одиничною знахідкою виявилось збільшення кількості CD4<sup>+</sup>- лімфоцитів на 28,6 % у щурів з фотополімерною пломбою на тлі діабету так само на 2-й тиждень спостереження порівняно до

щурів з цукровим діабетом із подальшими не достовірними змінами кількості при порівнянні.

Проведене комплексне дослідження особливостей будови лімфоїдної тканини асоційованої зі слизовою оболонкою ротової порожнини у щурів експериментальних груп показало, встановлення фотополімерної пломби, цукровий діабет та його поєднання із різними типами пломбувального матеріалу призводить до підвищення функціональна активність LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючі клітини в той час як встановлення цементної пломби майже не змінює їх чисельність.

Визначення загальної кількості лімфоцитів в епітелії та у власній пластинці ясен показало строкозалежність, починаючи з 4-о тижня спостереження, а виразність змін корелювала із видом пломбувального матеріалу та сформованого цукрового діабету. Найбільша кількість лімфоцитів епітелію виявлялась у щурів з поєднанням фотополімерної пломби і цукрового діабету. Суттєвою особливістю топографо-гістологічного розташування клітин стало встановлення більшої їх чисельності у власній пластинці ясен щурів усіх експериментальних груп, значення яких були приблизно однакові із незначним превалюванням кількості у щурів з поєднанням фотополімеру і діабету.

Аналіз особливостей розподілу НРА<sup>+</sup>-лімфоцитів в епітелії і власній пластинці ясен щурів експериментальних груп показав збільшення їх кількості внутрішньо-епітеліально, але зменшення у власній пластинці. Зміни кількості внутрішньо-епітеліальних НРА<sup>+</sup>-лімфоцитів показали залежність від виду пломбувального матеріалу (збільшення їх у щурів з фотополімерним матеріалом майже в 2 рази порівняно до цементної пломби) і ускладненості цукровим діабетом (при поєднанні втручань кількість НРА<sup>+</sup>-лімфоцитів зменшується). На відміну у випадку з цементною пломбою поєднання цього пломбувального матеріалу з діабетом значно збільшує кількість НРА<sup>+</sup>-лімфоцитів, як при порівнянні з діабетом і пломбою без нього, так і з фотополімерною пломбою.

Проведений порівняльний аналіз особливостей розподілу PNA<sup>+</sup>-лімфоцитів в епітелії і власній пластинці ясен щурів дав змогу стверджувати, що кількість досліджуваних клітин у щурів всіх експериментальних груп в більшості строків спостереження була достовірно більшою за аналогічний показник контрольної групи та довів суттєву роль у формуванні змін поєднаного втручання (цукровий діабет та встановлена фотополімерна пломба).

Характеристика SBA<sup>+</sup>-B-лімфоцитів у власній пластинці ясен тварин експериментальних груп показала їх загальне збільшення, що залежало від строку спостереження та поєднаності впливів. Окремо необхідно відмітити значне збільшення майже в 2-3 рази кількості SBA<sup>+</sup>-B-лімфоцитів у щурів з пломбами різного походження і діабету. Цікавими були отримані дані збільшення кількості SBA<sup>+</sup>-B-лімфоцитів у щурів з фотополімером при порівнянні з цементною пломбою, що продублювалось і при порівнянні тих самих пломб на тлі діабету.

Подібні закономірності були отримані при аналізі вмісту та розподілу у власній пластинці ясен B<sub>1</sub>-лімфоцитів щурів експериментальних груп, які показали значне їх збільшення майже в 3 рази, особливо к 6-у тижню спостереження. При цьому у щурів з різним пломбувальним матеріалом виявило збільшення кількості цих клітин при фотополімерній пломбі майже на 20 % порівняно до значень щурів з цементною пломбою. Слід зазначити, що аналогічні матеріали на тлі діабету повторили тенденцію, при цьому у щурів з фотополімером на тлі діабету кількість ConA<sup>+</sup>,SBA<sup>+</sup>-B<sub>1</sub>-лімфоцитів була більшою в середньому на 32 % (середній показник за всі строки), а з цементною відбулося навпаки їх зменшення в середньому на 30 %. Попарне порівняння кількісних значень щурів з пломбою та аналогічною пломбою на тлі діабету показало достовірні відмінності у щурів з цементними пломбами лише на 6-у тижні (у щурів з діабетом і пломбою більше на 25 %), а при фотополімерних пломбах, у щурів з поєднанням пломби і діабету кількість клітин була більшою на 2-у і 4-у тижнях майже у 2 рази.

Багатокомпонентна імуногістохімічна характеристика популяцій лімфоцитів у власній пластинці ясен тварин експериментальних груп показало збільшення чисельності всіх 4-х типів ( $CD20^{+}$ -,  $CD5^{+}$ -,  $CD4^{+}$ - та  $CD8^{+}$ -лімфоцитів) з максимальною їх кількістю на 6-у тиждень дослідження. Достовірних відмінностей між кількістю лімфоцитів на тлі різних пломбувальних матеріалів виявлено не було, тоді як їх встановлення на тлі цукрового діабету показало статистичне значуще зменшення на 2-у тиждень спостереження кількості  $CD20^{+}$ - і  $CD4^{+}$ - лімфоцитів у щурів з цементною пломбою порівняно до фотополімеру. Цікавими знахідками було виявлення зменшення на 22,6 % кількості  $CD20^{+}$ -лімфоцитів у щурів з цементною пломбою на тлі діабету на 2-й тиждень спостереження порівняно до аналогічного строку в щурів з цукровим діабетом, але подальші зміни їх чисельності не були статистично значущі. Такою самою одиничною знахідкою виявилось збільшення кількості  $CD4^{+}$ - лімфоцитів на 28,6 % у щурів з фотополімерною пломбою на тлі діабету так само на 2-й тиждень спостереження порівняно до щурів з цукровим діабетом із подальшими не достовірними змінами кількості при порівнянні.

Результати дослідження висвітлені у наукових працях автора: [145-154].

## РОЗДІЛ 6

### ОБГОВОРЕННЯ І УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

За результатами проведеного комплексного дослідження анатомо-гістологічних змін в тканинах пародонту у щурів із фотополімерним та цементним пломбувальними матеріалами з 2-о по 6-й тижні після їх встановлення, а також у щурів із встановленими цими же пломбувальними матеріалами, але на фоні експериментально стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету було визначено, що у здорових щурів використання пломбувального матеріалу не залежно від його виду практично не впливає на анатомо-гістологічну структуру тканин пародонту.

Дослідження показало, що сформований цукровий діабет суттєво змінює структуру пародонту. Більш того, було доведено, що на тлі цукрового діабету встановлення фотополімерного або цементного пломбувального матеріалів призводить до прогресування анатомо-гістологічних перебудов в структурі пародонту, що первинно ініціюються цукровим діабетом, але прогресують через комплекс проведених маніпуляцій та, безпосередньо, травматизації слизової оболонки. Паралельно із цим визначено, що встановлення щурам із експериментальним цукровим діабетом цементного пломбувального матеріалу, в порівнянні із фотополімерним, призводило до менших морфологічних змін в тканинах пародонту.

Для обґрунтування описаних змін та комплексного вивчення анатомо-гістологічних перебудов в тканинах пародонту щурів експериментальних груп були використані сучасні методи, а саме: анатомічний (оглядовий) із описанням слизової оболонки ротової порожнини експериментальних тварин, морфометричний (зафарбовували гістологічних зрізів гематоксиліном і еозіном, проводили ШІК-реакцію з дофарбуванням ядер клітин гематоксиліном Ерліха), гістологічний і лектин-гістохімічний (для вивчення популяцій лімфоцитів, антигенпрезентуючих клітин Лангерганса,

елементів архітекtonіки сполучної тканини); гістобактеріологічний (для дослідження характеру змін мікробіоти ротової порожнини щурів експериментальних груп), імуногістохімічний (для вивчення CD5+-, CD20+-, CD4+-, CD8+ рецепторів лімфоцитів слизової оболонки ротової порожнини щурів) та методи статистичного аналізу.

Дослідження було проведено на щурах самцях лінії Wistar, частині з яких встановлювали фотополімерний та цементний пломбувальний матеріали, а іншій моделювали цукровий діабет а потім встановлювали фотополімерний та цементний пломбувальний матеріали і спостерігали протягом 2 – 6-ти тижнів. Важливою умовою проведеного дослідження було проведення динамічного тривалого спостереження, яке базувалося на системному аналізі всіх досліджуваних параметрів у різні періоди, що відповідали початку формування імунної відповіді та структурних перебудов у тканинах пародонту – 2-а доба, активних цито-архікtonічним трансформаціям – 4-а доба та відновлювально-репаративному – 6-а доба.

Першим етапом дослідження було визначення біосумісності фотополімерного та цементного пломбувальних матеріалів із тканинами пародонту щура шляхом встановлення особливостей їх впливу на характер змін фібрилоархікtonіки, структури мікроциркуляторного русла, будови епітелію ясен та інтенсивності накопичення глікозаміногліканів на 2-й, 4-й та 6-й тижні після встановлення відповідного пломбувального матеріалу.

Слід відмітити, що стан окремих елементів сполучнотканинного каркасу пародонту при встановленні різноманітних видів пломбувальних матеріалів був описаний в науковій літературі [155-159]. Так, дослідження впливу склоіномерного пломбувального матеріалу показали, що основною запорукою його біосумісності із тканинами пародонту є його чудова адгезивність до дентину [155]. В свою чергу Callis P.D. et al. встановили, що певна початкова цитотоксичність до тканин пародонту, що проявляє цей пломбувальний матеріал вірогідно знижувалася із збільшенням часу після його встановлення, так як із збільшенням часу спостереження інтенсивність

протікання запального процесу зменшується [156]. З отриманих даних цих вчених логічно припустити, що появу пошкодження клітин після пломбування слід пов'язати не із самим пломбувальним матеріалом, а більше із самою процедурою встановлення пломби. Це припущення підтверджується даними тих же вчених, котрі встановили, що склоіномерний пломбувальний матеріал має кращу біосумісність в порівнянні із іншими пломбувальними матеріалами, а наявність невеличких його частин в кістці нижньої щелепи не затримує загоєння [156]. В той же час інші вчені показали, що склоіномерний цемент здатний до пригнічення росту фібробластів ясен та зв'язок (ligamenti) пародонту [157]. Паралельно з цим Osorio R.M. et al. показали, що на культурах клітин цей пломбувальний матеріал, а саме його вид Ketac Silver, був більш токсичний, ніж інша пломбувальна речовина, а саме мінеральний триоксидний агреат (МТА). Дослідники пов'язують це із наявністю високої концентрації іонів срібла в Ketac Silver [158]. До подібних висновків дійшли Earl M.S та Ibbetson R.J. стверджуючи, що коли склоіномерний цемент на початку його реакції захоплення с дентином піддається впливу рідини, то він стає не придатним до використання в ендодонтичній хірургії [159].

Загалом, підсумовуючи результати свого огляду біосумісності і впливу на структуру пародонту різних пломбувальних матеріалів Bodrumlu E. вказує, що склоіномерний цемент має незначний вплив на структуру тканин пародонту і має чудову біосумісність [160].

Результати проведеного власного досліджень засвідчують, що у здорових щурів лінії Wistar цементна пломба не призводить до значних змін фібро-архітектоніки та мікроциркуляторного русла, а також гістологічної будови епітелію ясен на накопичення глікозаміногліканів в ньому порівняно із контрольними щурами протягом всього періоду спостереження, що також є додатковим свідченням на користь високої біосумісності цементної пломби у експериментальних щурів. Ці дані підтверджує дослідження W.F Caughman et al. в результаті якого вчені дійшли висновку, що склоіномерний цемент не призводить до значних морфологічних пошкоджень, проте може



проявляти пригнічення синтезу високомолекулярних речовин у ясенних фібробластах [161].

В той же час дослідження різних аспектів біосумісності фотополімерного пломбувального матеріалу із тканинами пародонту показало, що мономер фотополімерного пломбувального матеріалу (EGDMA та TEGDMA) мають певні цитотоксичні властивості, котрі можуть бути запорукою розвитку запального процесу в місці її встановлення і призводити до розвитку фіброзних змін в структурі пародонту [162]. Цієї думки дійшли і W.F Caughman з колегами, що встановили значний цитотоксичний ефект у фотополімерного матеріалу в порівнянні із склоіономерним пломбувальним матеріалом [161]. В той же час, Haglund R et al. довели, що цей матеріал має інгібуючий ефект на клітинний ріст, та при його наявності в експерименті виявляється відсутність цитокін-індукованої диференціації фібробластів та відповідної активації макрофагів [163]. В підтвердження цьому слугують дані Hsiao-HuaChang з колегами, котрі встановили, що наявність цього пломбувального матеріалу збільшує продукцію активних форм кисню. Автори пов'язують це із зниженням продукції та, як наслідок – виснаження системи глутатіону в епітелії ясен [164]. З іншого боку, використання композитної смоли в якості кореневого наповнювача призводило до цементогенезу в них [165].

Певною мірою отримані результати власного дослідження свідчать, що вплив фотополімерного пломбувального матеріалу у здорових щурів протягом 6-и тижнів спостереження не мав таких драматичних наслідків на морфологію тканин пародонту, як описують інші дослідники. Цьому може бути декілька пояснень: різні склади фотополімерних матеріалів, що застосовувалися, також деякі дослідження із наведених проводилися не на щурах, а на кролях та людях, у котрих регенераторний потенціал відновлення тканин пародонту значно менший, ніж у щурів. Деякі експерименти взагалі проводилися на культурах клітин, що виключає міжклітинні взаємодії сполучної тканини та з епітелієм в пародонті. Крім того ще одним вагомим

фактором виникнення розбіжностей можуть слугувати різні строки спостереження в експериментах (в більшій частині досліджень вони були значно коротшими, що не давало можливості дослідникам спостерігати відділені наслідки після встановлення фотополімеру).

Наступним етапом дослідження було вивчення морфологічних особливостей впливу пломбувального матеріалу (цементного або фотополімерного) у щурів із прогресуючим цукровим діабетом. В наведеному дослідженні було показано, що встановлення фотополімерного або цементного пломбувальних матеріалів у щурів на фоні цукрового діабету супроводжувалось прогресуванням тих патологічних змін, до яких призводив безпосередньо цукровий діабет. Так було виявлене значне стовщення колагенових волокон, дезінтеграційні структурні зміни базальної мембрани, значне зроговіння епітелію ясен. Факт погіршення стану пародонту у некомпенсованих щурів із діабетом на фоні ортодонтичного втручання був встановлений також і Mariano Enrique Villarino та колегами, котрі в своєму дослідженні змогли досягти позитивного ортодонтичного результату у щурів лінії Wistar із цукровим діабетом лише після компенсації патологічного процесу [166].

В той же час, в роботі було встановлено, що фотополімерний пломбувальний матеріал порівняно до цементного призводив до більш виражених змін в мікроциркуляторному руслі та до найменшої інтенсивності накопичення глікозаміногліканів в епітелії ясен у щурів із експериментальним цукровим діабетом. Загалом, ці дані свідчать про менший негативний ефект цементного пломбувального матеріалу в порівнянні із фотополімерним на тканини пародонту у щурів із цукровим діабетом. Так, переваги цементного пломбувального матеріалу в щурів з цукровим діабетом а саме: швидке формування нового дентину, і відповідну швидку регенерацію пошкодженої тканини в експерименті описали Zahra Sadat Madani et al. [167]. В свою чергу, вище було вже відмічено, що фотополімер навіть у відносно здорових тварин та людей призводив до

певного деструктивного ефекту на будову тканин пародонту [163-164]. Саме через це логічно припустити, що на фоні цукрового діабету, при якому як відомо репаративні процеси та мікроциркуляція в тканинах значною мірою порушені, певний деструктивний ефект фотополімеру може бути підсиленим.

Окремим блоком слід виділити стан локальної імунної системи пародонту та мікробіоти у щурів експериментальних груп в якості важливого елементу реалізації біосумісності пломбувального матеріалу. В цьому аспекті вивчалися наступні параметри: кількість CD5<sup>+</sup>-, CD20<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup> лімфоцитів в пародонті, кількість бактерій на умовну одиницю площі слизової пародонту та додатково досліджувалась інтенсивність накопичення вуглеводних біополімерів в біоплівці, як субстрат для адгезії мікрофлори на слизову оболонку. Крім цього важливим елементом аналізу отриманих даних було проведення кореляційних зв'язків між кількістю досліджуваних лімфоцитів та мікробним навантаженням на слизову оболонку пародонту.

При проведенні кореляційного аналізу за Спірменом у контрольних тварин було встановлено, що між кількістю мікроорганізмів в біоплівці епітелію ясен і кількістю SBA<sup>+</sup>В-лімфоцитами, CD5<sup>+</sup>-, CD20<sup>+</sup>-лімфоцитами, CD8<sup>+</sup>-цитотоксичними лімфоцитами, HPA<sup>+</sup>-цитотоксичними лімфоцитами епітелію ясен і HPA<sup>+</sup>-цитотоксичними лімфоцитами власної пластинки існував високий кореляційний зв'язок, що вказує на наявність двостороннього зв'язку між оральною мікробіотою та локальною імунною системою в здоровій ротовій порожнині щура. Коефіцієнт кореляції між кількістю бактерій та кількістю CD8<sup>+</sup>-В-лімфоцитів складав  $r=0,81$ , CD5<sup>+</sup>-В-лімфоцитів –  $r=0,83$ , CD20<sup>+</sup> –  $r= 0,74$ , В-лімфоцитів –  $r=0,55$ , HPA<sup>+</sup>-цитотоксичними лімфоцитами епітелію ясен і HPA<sup>+</sup>-цитотоксичними лімфоцитами власної пластинки відповідно  $r=0,68$  та  $r=0,89$  (рис. 6.1).

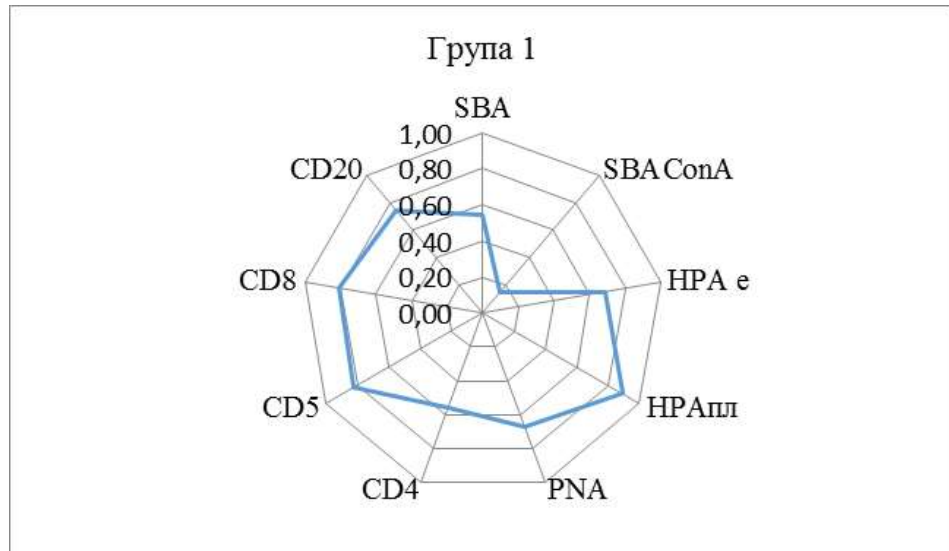


Рисунок 6.1 – Кореляційні зв'язки між кількістю мікроорганізмів в біоплівці ясен і кількістю лімфоцитів в пародонті у щурів контрольної групи

В той же час при наявності фотополімерної пломби кореляційні зв'язки найбільше зростали між кількістю мікроорганізмів та кількістю  $CD4^{+}$ -і  $SBA^{+}$ -В-лімфоцитів. Так, при наявності фотополімерної пломби коефіцієнт кореляції між кількістю мікробних клітин і  $SBA^{+}$ -В-лімфоцитів збільшувався до  $r=0,89$ , в порівнянні з тваринами інтактної групи ( $r=0,55$ ), а між кількістю мікробних клітин і  $CD4^{+}$ -лімфоцитами індекс кореляції зростав до  $r=0,90$  в порівнянні з тваринами групи контролю ( $r=0,56$ ). Тоді як кореляційні співвідношення між останніми лімфоцитами суттєво не відрізнялися від показнику контрольних тварин (рис. 6.2).

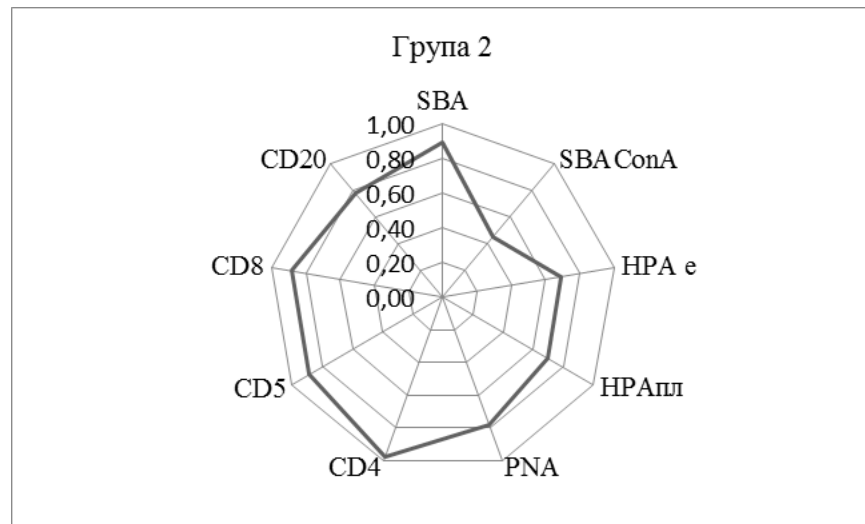


Рисунок 6.2 – Кореляційні зв'язки між кількістю мікроорганізмів в біоплівці ясен і чисельністю лімфоцитів в пародонті у щурів з фотополімерною пломбою

Необхідно зазначити, що формування таких змін базується на розвитку дисбалансу між кількістю видів лімфоцитів та чисельністю бактерій, що формується у здорових тварин при встановленні фотополімерної пломби. В дослідженні кількість бактерій на одиницю площі лише на 6-й тиждень спостереження була вірогідно більше за показники контролю, як і кількість лімфоцитів ставала вірогідно більшою протягом всього періоду спостереження. Цей факт логічно узгоджується із встановленою збільшеною інтенсивністю накопичення вуглеводних біополімерів, як субстрату адгезії бактерій до слизової ясен у тварин із фотополімерним пломбувальним матеріалом. Важливим елементом утворення вказаного дисбалансу може слугувати застосування ультрафіолету при встановленні експериментальним тваринам фотополімеру. Так як неодноразово було вказано на його бактерицидні властивості та високу здатність активувати локальні імунокомпетентні клітини [168]. В той же час, при наявності цементної пломби кореляційні зв'язки відповідали показникам групи контрольних тварин, що в свою чергу логічно пов'язується із тим встановленим фактом, що у здорових тварин з цементною пломбою

бактеріальне навантаження на пародонт та інтенсивність накопичення вуглеводних біополімерів залишалася на рівні показників контрольних тварин. Тобто можемо стверджувати, що наявність цементного матеріалу не впливала на баланс мікробіота/локальний імунітет у цієї групи експериментальних щурів (рис. 6.3).

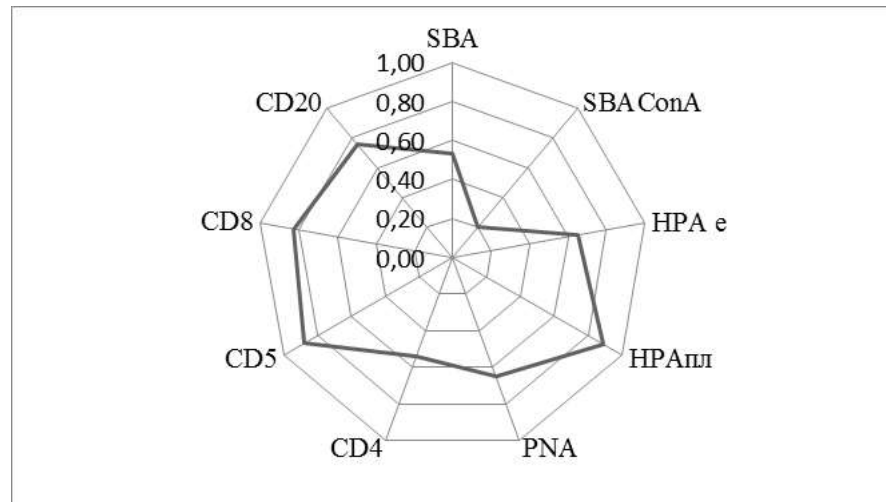


Рисунок 6.3 – Кореляційні зв'язки між кількістю мікроорганізмів в біоплівці ясен і чисельністю лімфоцитів в пародонті у щурів з цементною пломбою

Слід зауважити, що певні переваги цементного пломбувального матеріалу перед фотополімерним в плані підтримання нормального складу мікробіоти ротової порожнини були уже відмічені іншими вченими [169]. В той же час росту патогенної мікрофлори при застосуванні обидвох цих видів пломбувального матеріалу у здорових людей іншими вченими встановлено не було [170].

Подальший проведений кореляційний аналіз досліджуваних показників при експериментальному цукровому діабеті, порівняно до контрольних тварин показав, що найбільш важливими були встановлені посилені позитивні кореляційні зв'язки між кількістю бактерій та CD8+-цитотоксичними і CD20+-В-лімфоцитами, що підкреслює розвиток дисбалансу між підвищеним мікробним навантаженням на слизову пародонту при цукровому діабеті та специфічною клітинною і гуморальною

ланками імунітету. Коефіцієнт кореляції між кількістю мікробних клітин і CD8+-В-лімфоцитами дорівнював  $r=0,98$ , а між кількістю мікробних клітин і CD20+-В-лімфоцитами  $r=0,89$ , що було значно більше за відповідні показники контрольних тварин. При цьому слід зауважити, що інтенсивність накопичення вуглеводних біополімерів в біоплівці пародонту у щурів із цукровим діабетом була значною більшою, порівняно до контрольних тварин (рис. 6.4).

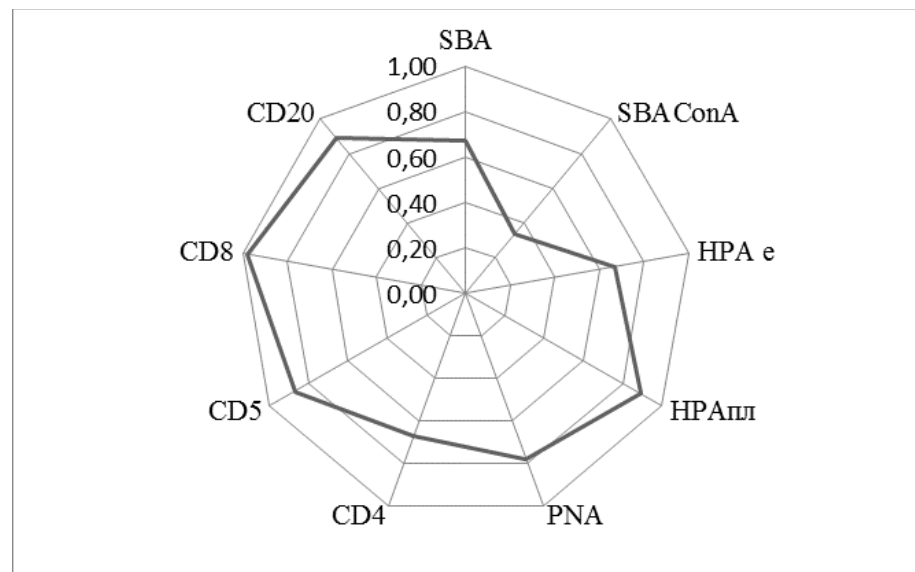


Рисунок 6.4 – Кореляційні зв'язки між кількістю мікроорганізмів в біоплівці ясен і чисельністю лімфоцитів в пародонті у щурів з експериментальним цукровим діабетом

В той же час при поєднанні експериментального цукрового діабету і наявності фотополімерної пломби кореляційні зв'язки між кількістю мікробних клітин та чисельністю досліджуваних видів лімфоцитів були такі, як і у щурів із експериментальним цукровим діабетом. Проте, слід взяти до уваги, що в слизовій пародонту щурів цієї експериментальної групи був встановлений факт значної інтенсивності накопичення вуглеводних біополімерів порівняно до щурів із експериментальним цукровим діабетом (рис. 6.5).

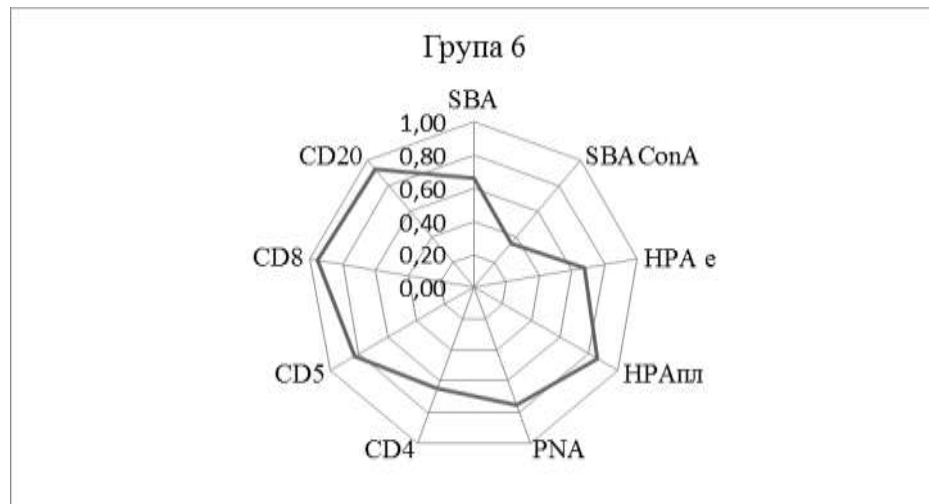


Рисунок 6.5 – Кореляційні зв'язки між кількістю мікроорганізмів в біоплівці ясен і чисельністю лімфоцитів в пародонті у щурів з експериментальним цукровим діабетом і наявністю фотополімерної пломби

При цьому, кореляційні взаємовідношення між кількістю мікробних тіл в біоплівці і кількістю лімфоцитів в пародонті щурів із експериментальним цукровим діабетом і встановленим цементним пломбувальним матеріалом були значно слабші за відповідні кореляційні зв'язки у щурів із експериментальним цукровим діабетом. Так у тварин із цукровим діабетом та цементною пломбою відносно тварин із цукровим діабетом та цементною пломбою відповідно тварин із цукровим діабетом та цементною пломбою відносно тварин із цукровим діабетом та цементною пломбою коефіцієнти кореляції між кількістю мікробних клітин і кількістю CD8+-В-лімфоцитів становив  $r=0,87$  проти значень контролю –  $r=0,98$ ; CD4+-В-лімфоцитів  $r=0,89$  проти контрольних  $r=0,67$ ; SBA+В-лімфоцитів  $r=0,88$  проти  $r=0,67$ , HPA+-цитотоксичними лімфоцитами епітелію ясен і HPA+-цитотоксичними лімфоцитами власної пластинки відповідно  $r=0,78$  проти  $r=0,67$  та  $r=0,91$  проти  $r=0,89$  відповідно. Важливою приміткою до вищесказаного може слугувати встановлений факт зменшеної інтенсивності накопичення вуглеводних біополімерів у групі щурів із цукровим діабетом та цементною пломбою в порівнянні із тваринами з діабетом (рис. 6.6).



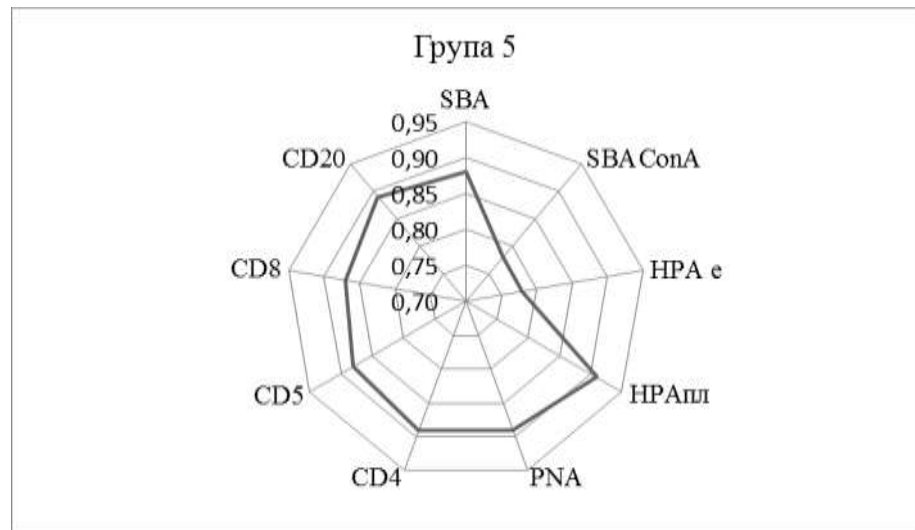


Рисунок 6.6 – Кореляційні зв'язки між кількістю мікроорганізмів в біоплівці ясен і кількістю лімфоцитів в пародонті у щурів з експериментальним цукровим діабетом і наявністю цементної пломби

Таким чином, підсумовуючи отримані результати можна стверджувати, що наявність цукрового діабету у експериментальних тварин призводить в тканинах пародонту до порушення нормального співвідношення між мікробним навантаженням та кількістю імунокомпетентних лімфоцитів. Встановлення фотополімерного пломбувального матеріалу тваринам із цукровим діабетом не впливає на характер кореляційних зв'язків між кількістю лімфоцитів та мікробним навантаженням пародонту порівняно до тварин із цукровим діабетом. Тоді як встановлення цементного пломбувального матеріалу тваринам із діабетом сприяє зменшенню відповідних індексів кореляції стосовно CD8<sup>+</sup>-В-лімфоцитів, та збільшенню – стосовно CD4<sup>+</sup>-В-лімфоцитів, SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів та HPA<sup>+</sup>-лімфоцитів.

**Резюме.** Проведений аналіз результатів комплексного дослідження особливостей анатомо-морфологічних змін в пародонті щурів із встановленими фотополімерним або цементним пломбувальними матеріалами, а також у щурів із цукровим діабетом та цукровим діабетом із встановленими фотополімерним та цементним пломбувальним матеріалом показав, що у здорових тварин встановлений пломбувальний матеріал мало

впливає на розвиток морфологічних змін в пародонті, але при цьому у тварин із фотополімерним пломбувальним матеріалом спостерігається тенденція до виникнення дисбалансу між кількістю лімфоцитів в слизовій пародонту та чисельністю мікробних клітин в ньому. Цементний пломбувальний матеріал у здорових тварин таких тенденцій не демонструє.

Крім цього дослідження показало, що наявність цукрового діабету супроводжується морфологічними змінами в тканинах пародонту, що включали дезінтегративні перебудови фібрилоархітектоніки, мікроциркуляції, зменшення накопичення глікозаміногліканів в епітелії ясен, зменшення товщини епітелію ясен, його зроговіння і крім цього, ріст кількості бактерій та лімфоцитів слизової на фоні збільшення інтенсивності накопичення вуглеводних біополімерів в слизовій оболонці пародонту.

Слід зазначити, що встановлення фотополімерного пломбувального матеріалу тваринам із цукровим діабетом до 6-о тижня спостереження поступово призводить до прогресування порушень мікроциркуляції, дезінтеграції сполучнотканинного каркасу пародонту, при цьому дисбаланс між мікробіотою та локальними лімфоцитами слизової відповідав такому у тварин із діабетом. Тоді як встановлення цементного пломбувального матеріалу не впливало на морфологію пародонту тварин із цукровим діабетом. Хоча і супроводжувалося певними змінами коефіцієнтів кореляції між кількістю CD4+, CD8+, HPA+, SBA+-В лімфоцитів та мікробним навантаженням пародонту щурів експериментальних груп, що може пояснюватися зміною кількості бактерій на слизовій пародонту.

Таким чином, у дисертаційній роботі за результатами проведеного багатокомпонентного дослідження анатомо-гістологічних змін в тканинах пародонту у щурів із фотополімерним або цементним пломбувальними матеріалами, а також у щурів із встановленими цими же пломбувальними матеріалами на фоні цукрового діабету було виявлено цілий комплекс змін з 2-о по 6-й тижні після їх встановлення. Визначено, що у здорових щурів використання пломбувального матеріалу не залежно від його виду практично

не впливає на анатомо-гістологічну структуру тканин пародонту, тоді як сформований цукровий діабет суттєво змінює його структуру та обтяжує перебіг. Дослідження показало, що встановлення фотополімерного або цементного пломбувального матеріалів на тлі цукрового діабету сприяє прогресуванню анатомо-гістологічних перебудов в структурі пародонту, що первинно ініціюються цукровим діабетом, але прогресують через комплекс проведених маніпуляцій та, безпосередньо, травматизацію слизової оболонки, сприяють порушенню складу мікробіоти ротової порожнини та локальної імунної системи. Паралельно із цим визначено, що встановлення щурам із експериментальним цукровим діабетом цементного пломбувального матеріалу, в порівнянні із фотополімерним, є більш щадним, сприяє меншим морфологічним змінам в тканинах пародонту, збережує склад мікробіоти та імунну реактивність.

## ВИСНОВКИ

Цукровий діабет характеризується великим різноманіттям ускладнень, не виключенням з яких є і стоматологічні – ксеростомія, карієс, гінгівіт, пародонтит. Через їх формування у хворих швидко погіршується стан зубо-щелепного апарату, а перед лікарем-стоматологом стає важливе питання – ефективний вибір реставраційного матеріалу для лікування зубів, що повинен бути малотравматичним, низькотоксичним, із мінімумом додаткових пошкоджуючих маніпуляцій. У дисертаційній роботі приведено експериментальне вирішення актуального наукового завдання нормальної анатомії, що полягає у визначенні морфологічних особливостей перебудови структур пародонту щурів при використанні різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету.

1. У контрольних щурів після встановлення фотополімерної або цементної пломби практично не змінюються гісто-топографічні характеристики м'яких тканин та судин мікроциркуляторного русла пародонту. У щурів з експериментальним цукровим діабетом визначається строкозалежне прогресуюче порушення фібрило-архітектоніки тканин пародонту у вигляді стоншення колагенових волокон та сповільнення розташування PFA<sup>+</sup>-волокон колагену III типу; на 6-му тижні спостереження в слизовій оболонці ясен спостерігається зменшення діаметру артеріол та у сосочковому шарі відбувається збільшення діаметру венул. У м'яких тканинах пародонту щурів з експериментальним цукровим діабетом після встановлення фотополімерної або цементної пломби спостерігається прогресуюча з часом дезорганізація, фрагментація та достовірне стоншення колагенових волокон, переривчастість, подрібненість на окремі фрагменти PFA<sup>+</sup> - волокон колагену III типу, найбільш виражене у сосочковому шарі слизової оболонці ясен; наростання периваскулярного набряку м'яких тканин пародонту, поява численних крововиливів, у сосочковому шарі слизової оболонки збільшення діаметрів венул, в сітчастому – зменшення.

2. В умовно здорових щурів за наявності фотополімерного або цементного пломбувального матеріалів у різні строки спостереження підсилюється процес зроговіння епітелію не змінюючи його товщину, збільшується накопичення вуглеводних біополімерів в біоплівці, суттєво не впливаючи на мікробне навантаження. Після встановлення фотополімерної пломби, на відміну від цементної, прогресивно зменшується накопичення глікозаміногліканів у м'яких тканинах пародонту. У щурів з експериментальним цукровим діабетом потовщується епітелій слизової оболонки, посилюються процеси його зроговіння, має місце лейкоцитарна інфільтрація, зменшується вміст всіх класів глікозаміногліканів, інтенсифікується прогресивне накопичення вуглеводних біополімерів в біоплівці та мікробне навантаження. Після встановлення щурам із експериментальним цукровим діабетом фотополімерного або цементного пломбувальних матеріалів, порівняно до тварин із цукровим діабетом без втручань, ще більше зменшується накопичення глікозаміногліканів, але інтенсивність накопичення вуглеводних залишків збільшується лише при встановленні фотополімерної, але не цементної пломби. Мікробне навантаження в обох групах стає вищим за показники тварин із цукровим діабетом.

3. У контрольних щурів із встановленою цементною пломбою будова лімфоїдної тканини асоційованої зі слизовою оболонкою ротової порожнини не відрізняється від інтактних тварин, у контрольних тварин після встановлення фотополімерної пломби, у щурів з експериментальним цукровим діабетом та після встановлення ним різних типів пломбувального матеріалу спостерігається підвищення функціональної активності LCA<sup>+</sup>-антигенпрезентуючих клітин та строкозалежного, починаючи з 4-о тижня спостереження, збільшення кількості внутрішньо-епітеліальних лімфоцитів. Топографо-гістологічне розташування лімфоцитів в цілому та SBA<sup>+</sup>-В-лімфоцитів, PNA<sup>+</sup>-та HPA<sup>+</sup>-лімфоцитів, зокрема, характеризується збільшенням їх чисельності у власній пластинці ясен щурів усіх

експериментальних груп, що залежить від строку спостереження та наявності впливів. Вміст та розподіл  $B_1$ -лімфоцитів у власній пластинці ясен характеризується більшою кількістю при фотополімерній пломбі порівняно із цементною; на тлі експериментального цукрового діабету у щурів з фотополімером кількість  $ConA^+$ ,  $SBA^+B_1$ -лімфоцитів більша, а з цементною, навпаки, менша на третину у порівнянні з контролем. На 6-му тижні дослідження у власній пластинці ясен контрольних тварин незалежно від хімічної природи пломбувального матеріалу збільшується кількість  $CD20^+$ -,  $CD5^+$ -,  $CD4^+$ - та  $CD8^+$ - лімфоцитів. У щурів з експериментальним цукровим діабетом після встановлення цементної пломби порівняно до фотополімеру на 2-му тижні спостереження спостерігається статистично значуще зменшення кількості  $CD20^+$ - і  $CD4^+$ - лімфоцитів.

4. У контрольних тварин після встановлення пломбувального матеріалу структура пародонту майже не відрізняється від інтактних тварин. У щурів з експериментальним цукровим діабетом спостерігається дезінтеграція волокон сполучної тканини пародонту, змінюється функціональний стан судин мікроциркуляторного русла, зменшується накопичення глікозаміногліканів в епітелії ясен, змінюється товщина і темпи зроговіння епітелію слизової оболонки, прискорюється ріст кількості бактерій та, на тлі збільшення інтенсивності накопичення вуглеводних біополімерів біоплівки, збільшується кількість лімфоцитів власної пластинки. У тварин з експериментальним цукровим діабетом після встановлення фотополімерного пломбувального матеріалу до 6-го тижня спостереження характерне поступове прогресування порушень мікроциркуляції та дезінтеграції сполучнотканинного каркасу пародонту. У тварин з експериментальним цукровим діабетом після встановлення цементного пломбувального матеріалу майже не змінюється морфологія пародонту у порівнянні з тваринами з експериментальним цукровим діабетом, яким не встановлювали пломбувальний матеріал, хоча і супроводжується певними змінами

коефіцієнтів кореляції між кількістю CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, HPA<sup>+</sup>, SBA<sup>+</sup>-В<sub>1</sub>-лімфоцитів та мікробним навантаженням пародонту щурів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Наказ МОН від 04.10.2018 № 1802, «Про затвердження Змін до наказу Міністерства охорони здоров'я України від 10 липня 2007 року N 378» діє з 27.11.2018, режим доступу: URL: [http://search.ligazakon.ua/l\\_doc2.nsf/link1/RE32692.html](http://search.ligazakon.ua/l_doc2.nsf/link1/RE32692.html).
2. Rohani B. Oral manifestations in patients with diabetes mellitus. *World journal of diabetes*. 2019. 10(9). P. 485–489. <https://doi.org/10.4239/wjd.v10.i9.485>.
3. Наумова В. Н., Маслак Е. Е. Сахарный диабет и стоматологическое здоровье: проблемы диагностики и лечения пациентов стоматологических клиник. *Практическая медицина*. 2013. №4 (72). С. 10-14.
4. Diabetic microangiopathy: pathogenetic insights and novel therapeutic approaches / R.Madonna, C. R. Balistreri, Y-J. Geng et al. *Vascular pharmacology*. 2017. Т. 90. P. 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2017.01.004>.
5. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М., Креминская В. М. Патогенез ангиопатий при сахарном диабете. *Сахарный диабет*. 1999. №. 1. С. 2-8.
6. Statistical Study of Dental Changes in Patients Diagnosed with Diabetes Mellitus / С. М. FĂRCAȘ-BERECHET, E.M. Berechet, S Craitoiu et al. *Current health sciences journal*. 2019. 45(2). P. 190-197. <https://doi.org/10.12865/CHSJ.45.02.10>.
7. Гусакова Н. А. Стоматологический статус пациентов с сахарным диабетом. *Бюллетень медицинских интернет-конференций*. 2018. Т. 8. №. 3. С. 126-127. URL: <https://medconfer.com/files/archive/2018-03/2018-03-5-A-17330.pdf>.
8. Diabetes mellitus and the healing of periapical lesions in root filled teeth: a systematic review and meta-analysis / A. Gupta, V. Aggarwal, N. Mehta et



al. *International Endodontic Journal*. 2020. Vol. 53. №. 11. P. 1472-1484.  
<https://doi.org/10.1111/iej.13366>.

9. Евневич Е. П., Конышко А. С., Крикова А. В. АНАЛИЗ ПРЕДПОЧТЕНИЙ В ВЫБОРЕ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ВРАЧАМИ СТОМАТОЛОГАМИ-ТЕРАПЕВТАМИ В РОССИИ. *Здоровье–основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения*. 2020. Т. 15. №. 1. С. 535-543.

10. Адлейба А.С., Арутюнов С.Д., Артифексова А.А. Изменения тканей пародонта у животных с экспериментальным сахарным диабетом *Аллергология и иммунология*. 2013. Т.14. №1. С. 55-57.

11. Авдеев, А. В. Морфология пародонта крыс при моделировании гипореактивности организма. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2012. 6. 29. С. 1-6.

12. Narayanan A. S., Page, R. C. Connective tissues of the periodontium: A summary of current work. *Collagen and Related Research*. 1983. Vol. 3, Iss.1. P. 25-31. [https://doi.org/10.1016/S0174-173X\(83\)80047-8](https://doi.org/10.1016/S0174-173X(83)80047-8).

13. Connective tissue organization of healthy human gingiva. Ultrastructural localization of collagen types I-III-IV / C. Chavrier, M. L. Couble, H. Magloire et al. *J. Periodont Res*. 1984. Vol. 19. Issue 3. P. 221-229. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1984.tb00813.x>.

14. Electron-immunocytochemistry of laminin and type-IV collagen in the junctional epithelium of rat molar gingiva / T. Sawada, T. Yamamoto, T. Yanagisawa et al. *J. Periodont Res.*, 1990. Vol. 25. Issue 6. P. 372-376. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1990.tb00930.x>.

15. Larjava H., Hakkinen L., Rahemtulla F. A biochemical analysis of human periodontal tissue proteoglycans. *The Biochem. J*. 1992., Vol 284 (1). P. 261-274. <https://doi.org/10.1042/bj2840267>.

16. Bartold P. M. Distribution of chondroitin sulfate and dermatan sulfate in normal and inflamed human gingiva. *J. Dent. Res*. 1992 Vol. 71. P. 1587-1593. <https://doi.org/10.1177/00220345920710090801>.

17. Immunohistochemical localization of proteoglycans in human periodontium / L. Hakkinen, O. Oksala, T. Salo et al. *J. Histochem. Cytochem.* 1993. Vol. 41. P. 689-1699. <https://doi.org/10.1177/41.11.8409375>.
18. Immunohistochemical localization of SPARC (Osteonectin) and denatured collagen and their relationship to remodelling in rat dental tissues / J. Salonen, C. Domenicucci, H. Goldberg. et al. *Arch. Oral Biol.*, 1990. Vol. 35. P. 337-346. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(90\)90180-I](https://doi.org/10.1016/0003-9969(90)90180-I).
19. Immunohistological localization of cell adhesion proteins and integrins in the periodontium / B. Steffensen, A. H. Duong, S. B. Milam et al. *J. Periodontol.* 1992. Vol. 63. P. 584-592. <https://doi.org/10.1902/jop.1992.63.7.584>.
20. Immunolocalization of beta 1 integrins in human gingival epithelium and cultured keratinocytes / H. Larjava, C. Zhou, Larjava et al. *Scand. J. Dent. Res.* 1992. Vol. 100. P. 266-273. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1992.tb01069.x>.
21. Distribution of undulin, tenascin, and fibronectin in the human periodontal ligament and cementum: comparative immunoelectron microscopy with ultra-thin cryosections. / X. Zhang, D. Schuppan, J. Becker. et al. *J. Histochem. Cytochem.* 1993. Vol. 41 P. 245-251. <https://doi.org/10.1177%2F41.2.7678270>.
22. Immunoelectron microscopic localization of collagens type I, V. VI and of procollagen type III in human periodontal ligament and cementum / J. Becker, D. Schuppan, J. Rabanus, et al. *J. Histochem. Cytochem.* 1991. Vol. 39. P. 103-110. <https://doi.org/10.1177%2F39.1.1983870>.
23. Cell attachment activity of cementum: bone sialoprotein II identified in cementum / M. J. Somerman, J. J. Sauk, R. A. Foster et al. *J. Periodont Res.* 1991. Vol. 26. P. 10-16. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1991.tb01620.x>.
24. MacNeil R. L., Somerman M. J. Factors regulating development and regeneration of cementum. *J. Periodont. Res.* 1993. Vol. 28. P. 550-559.
25. Phosphoprotein extraction from the dentine-cementum complex of human tooth roots / S. P. McCurdy, B. H. Clarkson, R. L. Speirs et al. *Arch. Oral Biol.* 1990. Vol 35. P. 341-357. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(90\)90181-9](https://doi.org/10.1016/0003-9969(90)90181-9).

26. Specific immunohistochemical localization of type I collagen in porcine tissues using the peroxidase labelled antibody technique / L. G. Rao, H. M. Wang, R. Kalliecharan et al. *Histochemical J.* 1979. Vol. 11. P. 73-82. <https://doi.org/10.1007/bf01041266>.
27. Bartold P. M. A biochemical and immunohistochemical study of the proteoglycans of alveolar bone. *J. Dent. Res.* 1990. Vol. 69. P. 7-19. <https://doi.org/10.1177%2F00220345900690011201>.
28. Мачоган В. І., К.С. Волков, Г.А. Єрошенко Морфофункціональна характеристика пародонту щурів. *Світ медицини та біології.* 2011. № 2. С. 31-33.
29. Carranza, F. A., Newman, M. G. (1996). *Clinical periodontology* 8th edition. W. B Saunders Company. Philadelphia. 782 p.
30. Immunohistochemical localization of type I, III and IV collagen in healthy human gingiva. / C. Chavrier, M. L. Couble, H. Magloire. et al. *Journal de biologie buccale.* 1981. Vol. 9(3), P. 271–277.
31. Сохов, С. Т., Алимова, М. Я. (2013). *Болезни зубов и полости рта: учебник для медицинских училищ и колледжей: [по специальности 060101.52 "Лечебное дело"]*. ГЭОТАР-Медиа.
32. Данилевский, Н. Ф., Магид, Е. А., Мухин, Н. А., & Миликевич, В. Ю. (1993). *Заболевания пародонта*. – Москва: Медицина, 1993. – 320 с.
33. Гизатуллина Э. Р. Структурные и биомеханические особенности слизистой оболочки десны : дис. – Уфа : ЭР Гизатуллина, 2006. – С. 1-18.
34. Lang N. P., Bartold P. M. Periodontal health. *Journal of periodontology* 2018. Vol. 89 (1). P 9-16. <https://doi.org/10.1002/JPER.16-0517>.
35. Leblond C. P. Structure, composition, and assembly of basement membrane. *Am. J. Anat.* 1989. Vol.185. P. 367-375. <https://doi.org/10.1002/aja.1001850403>.
36. Role Of Collagen In The Periodontal Ligament - A Review. T Ahuja, V Dhakray, M Mittal, et al. *The Internet Journal of Microbiology.* 2012 Volume 10 Number 1. <https://doi.org/10.5580/2b4e>.

37. Alvarez J.I. Inhibition of Toll like receptor immune responses by microbial pathogens. *Front Biosci* 2005. Vol. 10. P. 582-587.
38. Portnoy D.A. Manipulation of innate immunity by bacterial pathogens. *Curr Opin Immunol* 2005. Vol. 17. P. 25-28. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2004.11.002>
39. Involvement of toll-like receptor 3 in the immune response of lung epithelial cells to double-stranded RNA and influenza A virus. / L. Guillot, R. Le Goffic, S. Bloch et al. *J Biol Chem.* 2005. Vol. 280 P. 5571–5580. <https://doi.org/10.1074/jbc.M410592200>
40. Toll-like receptors 4 and 2 expression in the bronchial mucosa of patients with cystic fibrosis. / H.P. Hauber, M.K. Tulic, A. Tsicopoulos et al. *Can Respir J.* 2005. Vol. 12. P. 13–18. <https://doi.org/10.1155/2005/648984>
41. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. / S. Rakoff-Nahoum, J. Paglino, F. Eslami Varzaneh et al. *Cell* 2004 Vol. 118. P. 229–241. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.07.002>
42. Azuma M. Fundamental mechanisms of host immune responses to infection. *Journal of periodontal research* 2006. Vol. 41(5). P. 361-373. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2006.00896.x>.
43. Evaluation of the humoral immune response to the cytolethal distending toxin of *Aggregati bacteractinomycetem comitans* Y4 in subjects with localized aggressive periodontitis. / I. Xynogala, A. Volgina, J M. DiRienzo et al. *Oral Microbiol Immunol* 2009. Vol. 24. P. 116–123. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2008.00483.x>.
44. Ebersole J. L. Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. *Periodontology* 2000 Vol. 31. P.135–166. URL: <https://www.cataniamedica.it/wp-content/uploads/2018/02/rid-Presentazione-gruppo-B.pdf>.
45. Immunoglobulin A deficiency and oral health status: a case–control study / Jorgensen G.H., Arnlaugsson S., Theodors A. et al. *J Clin Periodontol* 2010. Vol. 37. P.1–8. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01494.x>.

46. Rams T.E., Listgarten M.A., Slots J. Actinobacillus actinomycetem comitans and Porphyromonas gingivalis subgingival presence, species-specific serum immunoglobulin G antibody levels, and periodontitis disease recurrence. *J Periodontal Res.* 2006. Vol. 41. P. 228–234. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2005.00860.x>.

47. Nędzi-Góra M., Kowalski J., Górska R.. The immune response in periodontal tissues. *Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis.* 2017. Vol. 65(5). P. 421-429. <https://doi.org/10.1007/s00005-017-0472-8>.

48. Ричард Д. Л. Микробиология и иммунология для стоматологов / Д.Л. Ричард, С.Л. Мэрилин, А.Б. Роберт, Д.Л. Дональд, перевод с английского В.К. Леонтьева – М.: Практическая медицина, 2010. 502 с.

49. Clinical associations between IL-17 family cytokines and periodontitis and potential differential roles for IL-17A and IL-17E in periodontal immunity / R. Azman, D.F. Lappin, A.M. Pherson et al. *Inflammation Research.* 2014. Vol. 63. №12. P. 1001-1012. <https://doi.org/10.1007/s00011-014-0776-7>

50. Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. / G. Hajishengallis, S. Liang, M. A. Payne et al. *Cell host & microbe.* 2011. Vol 10(5). P. 497-506. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.10.006>.

51. Dixon D. R., Bainbridge B. W., Darveau R. P. Modulation of the innate immune response within the periodontium. *Periodontology 2000.* 2004. Vol. 35(1). P. 53-74. <https://doi.org/10.1111/j.0906-6713.2004.003556.x>

52. Impact of oral commensal bacteria on degradation of periodontal connective tissue in mice. / K. Irie, T. Tomofuji, D. Ekuni et al. *Journal of periodontology* 2015., Vol. 86(7). P. 899-905. <https://doi.org/10.1902/jop.2015.150006>

53. Hooper L.V, Littman D.R, Macpherson A.J. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science* 2012. Vol. 336. P. 1268-1273. <https://doi.org/10.1126/science.1223490>.

54. Commensal bacteria-dependent select expression of CXCL2 contributes to periodontal tissue homeostasis. / C. Zenobia, X.L. Luo, A. Hashim, et al. *Cell Microbiol* 2013. Vol. 15. P. 1419-1426. <https://doi.org/10.1111/cmi.12127>.

55. Schroeder H.E., Listgarten M.A. The gingival tissues: The architecture of periodontal protection. *Periodontol* 2000. 1997. Vol. 13. P. 91-120. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1997.tb00097.x>.

56. Immunological characterization of junctional epithelium: An immunohistochemical study. / Fujioka M., Sasa R., Inoue M. et al. *Dent Med Res*. 2009 Vol. 29 P. 253-258. <https://doi.org/10.7881/dentalmedres.29.253>.

57. Irie K., Novince C.M., Darveau R.P. Impact of the oral commensal flora on alveolar bone homeostasis. *J Dent. Res* 2014. Vol. 93. P.801-806. <https://doi.org/10.1177%2F0022034514540173>.

58. Comprehensive analysis of gene expression in the junctional epithelium by laser microdissection and microarray analysis. / Y Hayashi., Matsunaga T., Yamamoto G. et al. *J Periodontal Res* 2010. Vol. 45. P. 618-625. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2010.01276.x>.

59. The characteristic cellular organization and CEACAM1 expression in the junctional epithelium of rats and mice are genetically programmed and not influenced by the bacterial microflora. / R. Heymann, J. Wroblewski, C. Terling, et al. *J Periodontol* 2001. Vol. 72. P.454-460. <https://doi.org/10.1902/jop.2001.72.4.454>.

60. Міжнародна федерація діабету <https://diabetesatlas.org>

61. Ткаченко В. І., Видиборець Н. В., Коваленко О. Ф. Аналіз поширеності та захворюваності на цукровий діабет і його ускладнення серед населення України та у Київській області за 2004–2013 рр. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2014 № 2. С. 177-182.

62. Straka, M. Oral manifestations of diabetes mellitus and influences of periodontological treatment on diabetes mellitus. *Bratisl Lek Listy*. 2011. Vol. 112(7). P. 416-20.

63. Будаичев, Г. А., Доменюк, Д. А. Ультраструктурные морфологические особенности строения эпителия десны крыс при индуцированном экспериментальном сахарном диабете. *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание*. 2019. №13(4).

64. Gul N., Ozsoy N. The ultrastructure of the capillaries in the gingiva of alloxan-induced diabetic rats. *Cell Biochem Funct* 2003. Vol. 21. P. 311-315. <https://doi.org/10.1002/cbf.1033>.

65. Vascular basement lamina thickness in the normal and inflamed gingiva of diabetics and non-diabetics. / M.A. Listgarten, F.H. Ricker Jr., L. Laster et al. *J Periodontol* 1974. Vol. 45. P. 676-684. <https://doi.org/10.1902/jop.1974.45.9.676>.

66. Advanced glycation end products (AGEs) induce oxidant stress in the gingiva: A potential mechanism underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes. / A.M. Schmidt, E. Weidman, E. Lalla et al. *J Periodontal Res* 1996. Vol. 31. P. 508-515. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1996.tb01417.x>.

67. Li J. Schmidt A.M Characterization and functional analysis of the promoter of RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *J Biol Chem*. 1997. Vol. 272. P. 16498-16506. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.26.16498>.

68. Survey of the distribution of a newly characterized receptor for advanced glycation end products in tissues / J. Brett, A.M. Schmidt, S.D. Yan et al. *Am J Pathol* 1993. Vol. 143. P.1699-1712.

69. Expression of the receptor of advanced glycation end products in gingival tissues of type 2 diabetes patients with chronic periodontal disease: A study utilizing immunohistochemistry and RT-PCR. / J. Katz, I. Bhattacharyya, F. Farkhondeh-Kish et al. *J Clin Periodontol*. 2005. Vol. 32. P. 40-44. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2004.00623.x>.

70. Hyperglycemia, glycooxidation and receptor for advanced glycation end products: Potential mechanisms underlying diabetic complications, including diabetes associated periodontitis. / E. Lalla, I.B. Lamster, S. Drury, et al.

*Periodontol.* 2000 2000. Vol. 23. P. 50-62. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2000.2230104.x>.

71. MMP-mediated events in diabetes. / M.E. Ryan, N.S. Ramamurthy, T. Sorsa. et al. *Ann N Y Acad Sci.* 1999. Vol.878. P. 311-334. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb07692.x>.

72. Diabetes causes decreased osteoclastogenesis, reduced bone formation, and enhanced apoptosis of osteoblastic cells in bacteria stimulated bone loss. / H. He, R. Liu, T. Desta et al. *Endocrinology* 2004. Vol. 145. P. 447-45244. <https://doi.org/10.1210/en.2003-1239>.

73. Diabetes alters the response to bacteria by enhancing fibroblast apoptosis. / R. Liu, T. Desta, H. He et. al. *Endocrinology* 2004. Vol. 145. P. 2997-3003. <https://doi.org/10.1210/en.2003-1601>.

74. Local and systemic factors in periodontal disease increase matrix-degrading enzyme activities in rat gingiva: Effect of micocycline therapy. / K.M. Chang, M.E. Ryan, L.M. Golub et. al. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1996. Vol. 91. P. 303-318.

75. Type 1 diabetes predisposes to enhanced gingival leukocyte margination and macromolecule extravasation in vivo. / C. Sima, K. Rhourida, T. E. Van Dyke et. al. *J. Periodontal. Res.* 2010. Vol. 45. P. 748–756. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2010.01295.x>.

76. Inflammatory reaction in chronic periodontopathies in patients with diabetes mellitus. Histological and immunohistochemical study. / G. C. Camen, O. Caraivan, M. Olteanu et al. *Rom J Morphol Embryol.* 2012. Vol. 53(1). P. 55-60.

77. Monocytic TNF alpha secretion patterns in IDDM patients with periodontal diseases. / G.E. Salvi, J.G. Collins, B. Yalda et al. *J Clin Periodontol.* 1997. Vol. 24(1). P. 8–16. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1997.tb01178.x>.

78. Genco R.J., Zambon J.J., Christersson L.A. The origin of periodontal infections. *Advances in Dental Research.* 1988. № 2. P. 245-259. <https://doi.org/10.1177%2F08959374880020020901>.



79. New concepts of destructive periodontal disease / S.S. Socransky, A.D. Haffajee, J.M. Goodson et al. *Journal of Clinical Periodontology*. 1984. Vol. 11. P. 21-32. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1984.tb01305.x>.

80. Современные аспекты патогенеза пародонтита у больных сахарным диабетом. / К. Р. Григорян, Г. М. Барер, О. Р. Григорян, и др. *Сахарный диабет*. 2006. № 2. С. 64-68.

81. Spontaneous periodontitis development in diabetic rats involves an unrestricted expression of inflammatory cytokines and tissue destructive factors in the absence of major changes in commensal oral microbiota. / M. Claudino, G. Gennaro, T.M. Cestari et al. *Exp Diabetes Res*. 2012. Vol. 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/356841>.

82. Taylor J. J., Preshaw P. M., Lalla E. A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *Journal of Clinical Periodontology*. 2013. Vol. 40 (Suppl 14). P. 113–134. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12059>.

83. Subgingival biodiversity in subjects with uncontrolled type-2 diabetes and chronic periodontitis. / R. C. Casarin, A. Barbagallo., T. Meulman et al. *Journal of Periodontal Research*. 2013. Vol. 48, P. 30–36. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2012.01498.x>.

84. Investigation of the effect of type 2 diabetes mellitus on subgingival plaque microbiota by high-throughput 16S rDNA pyrosequencing. / M. Zhou, R. Rong, D. Munro et. al. *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8. P. e61516. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061516>.

85. Aemaimanan, P., Amimanan, P., & Taweechaisupapong, S. (2013). Quantification of key periodontal pathogens in insulin-dependent type 2 diabetic and non-diabetic patients with generalized chronic periodontitis. *Anaerobe*, 22, 64–68. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.06.010>.

86. Relationship of clinical and microbiological variables in patients with type 1 diabetes mellitus and periodontitis / J. Sakalauskiene, R. Kubilius, A.

Gleiznys. *Medical Science Monitor*. 2014. 20. P. 1871–1877.  
<https://doi.org/10.12659/MSM.890879>.

87. Polak D., Shapira L. An update on the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *Journal of clinical periodontology*. 2018. 45(2). P. 150-166.

88. Characterization of cellular responses involved in reparative dentinogenesis in rat molars / R.N. D'souza, T. Bachman, K.R. Baumgardner et al. *Journal Dental Research*. 1995. 74. P. 702–709.

89. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement / T.R. Moretton, C.E. Brown, J.J. Legan et al. *Journal Biomed Mater Research*. 2000. 52. P. 528–533.

90. Huxley H.G. Histology of rat molar fissure plaque. *Archives of Oral Biology*. 1971. 16. P. 1311–1328.

91. Pathogenesis of induced rat periapical lesions / P. Stashenko, C.Y. Wang, N. Tani-Ishii, S.M. Yu. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1994. 78. P. 494–502.

92. Goldberg M., Smith A.J. Cells and extracellular matrices of dentin and pulp: a biological basis for repair and tissue engineering. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 2004. 15. P. 13–27.

93. Maurice C.G., Schour I. Experimental cavity preparations in the molar of the rat. *Journal Dental Research*. 1955. 34. P. 429–434.

94. Пат. SU 1790938 A1 . СССР. Материал для пломбирования зубов / Поликарпова, А. П., Поюровская, И. Я., Каральник, Д. М., Ермакова, Т. П., Болдырев, Р. А., Хохлов, А. А., & Евсева, О. А. Заявитель: Всесоюзный научно-исследовательский институт медицинских полимеров центральный научно-исследовательский институт стоматологии., Номер заявки: 4908701., Дата регистрации: 29.11.1990., Дата публикации: 30.01.1993.

95. Анализ адгезионной прочности стеклоиономерного цемента к твердым тканям временных зубов в зависимости от применения различных

видов ротационных инструментов / Т. В. Федулова, Л. П. Кисельникова, И. Я. Поюровская та ін. Институт стоматологии. 2010. 4 (49). P. 86-87.

96. Баяхметова, А. А., Сейдаханова, А. О. Проблемы профилактики рецидивного кариеса и пути их решения в современной кариесологии (обзор литературы).

97. Николаев Ю. М. Исследование микробной колонизации слепков в клинике ортопедической стоматологии. Проблемы стоматологии. 2007. 2. P. 18-21.

98. Narayanan, A. S., Bartold, P. M. Biochemistry of periodontal connective tissues and their regeneration: a current perspective. Connective tissue research. 1996. 34 (3). P. 191-201.

99. Relationship between periodontitis and diabetes: lessons from rodent studies / C. C. Pontes Andersen, A. Flyvbjerg, K. Buschard et al. Journal of periodontology. 2007. 78 (7). P. 1264-1275.

100. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. К. : Авіцена, 2002. 156 с

101. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорсткого поводження». Відомості Верховної Ради України. 2006. № 27. С. 230.

102. Ноздрачев А. Д., Поляков Е. Л. Анатомия крысы (Лабораторные крысы). Санкт-Петербург : Издательство «Лань», 2001. 464 с.

103. Weijs W. Mandibular movements of the albino rat during feeding. Journal Of Morphology. 1975. 145 (1). P. 107-124. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051450107>.

104. Казакова Р.В., Мельник В.С., Горзов Л.Ф. Пропедевтика дитячої терапевтичної стоматології: Навчальний посібник. Під ред. проф. Р.В. Казакової. Ужгород: Видавництво УжНУ «Говерла», 2018. 128 с.

105. Пирс Э. Гистохимия. Москва. : Изд-во иностр. лит., 1962. 962 с.

106. Меркулов Г. А. Курс патогистохимической техники. Ленинград : Медгиз, 1961. 340 с.

107. Селиванов Е.В. Красители в биологии и медицине: Справочник. Барнаул: Азбука, 2003. 40 с.
108. Авдеев О. В. Морфология пародонта крыс при моделировании гипореактивности организма. *Journal of Siberian medical sciences*. 2012. №6
109. Лили Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. пер. с англ. М. : Мир, 1974. 957 с.
110. Куприянов В.В. Безинъекционная методика изучения сосудов на пленочных препаратах. Морфологические основы микроциркуляции. М.: Медицина, 1965. С. 20-22.
111. Стефанов С. Б. Морфометрическая сетка случайного шага как средство ускоренного измерения элементов морфогенеза. *Цитология*. 1974. № 6. С. 785-787.
112. Стефанов С. Б., Кухаренко Н. С. Ускоренный способ количественного сравнения морфологических признаков : метод. рекомендации. Благовещенск : РИО Амурпрполиграфиздата, 1988. 28 с.
113. Авцын А. П. Струков А. И., Фукс Б. Б. Принципы и методы гисто- и цитохимического анализа. Л. : Наука, 1971. 369 с.
114. Scott JE, Dorling J. Differential staining of acid glycosaminoglycans (mucopolysaccharides) by alcian blue in salt solutions. *Histochemie*. 1965. 5 (3). P. 221-233. doi: 10.1007/BF00306130.
115. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. Москва : Медицина, 1990. – 384 с
116. Грама метод / Большая советская энциклопедия: в 30 т. / Гл. ред. А. М. Прохоров. 3-е изд. М. : Сов. энцикл., 1969 – 1978. т. 7.
117. Патент на корисну модель № 89088. Спосіб диференційованого виявлення В1-лімфоцитів в гістологічних препаратах / О.Г. Куц, М.А. Волошин, О.А. Варакута і патентовласник Запорізький державний медичний університет. № у 2006 07176; заявл. 27.06. 2014; опубл. 12.12.2014, Бюл. № 12.

118. Патент на корсину модель № 21635 Україна, МПК (2006) G 01N 21/00. Спосіб виявлення колагену III типу в гістологічних препаратах / Волошин М. А., Куш О. Г.; заявник і патентовласник Запорізький державний медичний університет. № u 2006 11423; заявл. 30.10.2006 ; опубл. 15.03.2007, Бюл. №3.
119. Луцик А. Д. Детюк Е. С., Луцик М. Д. Лектины в гистохимии. Львов : Вища школа, 1989. 140 с.
120. Mann K. K. Phenotype-associated lectin binding profiles of normal and transformed blood cells: a comparative analysis of mannose- and galactose-binding lectins from plants and human serum/placenta / K. K. Mann, S. Andre, H. J.Gabius. *European Journal of Cell Biology*. 1994. Vol. 65 (1). P. 145-151.
121. Reisner Y. Fractionation of subpopulations of mouse and human lymphocytes by peanut agglutinin or soybean agglutinin / Y. Reisner, N. Sharon. *Methods in Enzymology*. 1984. V.108. P. 168 - 179.
122. Strauchen J. A. Lectin receptors as markers of lymphoid cells. I. Demonstration in tissue section by peroxidase technique. *American Journal of Pathology*. 1984. Vol 116. P. 297 – 304.
123. Зайцев В. М., Маринкин В. И. (2006). Прикладная медицинская статистика.
124. Варакута О.А. Характеристика композиційного полімерного пломбувального матеріалу. *Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук : III регіональна науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих учених з всеукраїнською участю. (м. Запоріжжя, 29 листопада 2014 р.). м. Запоріжжя. 2014. С. 243-245.*
125. Куш О.Г. Варакута О.А. Адаптова методика постановки пломбувального матеріалу в експерименті. *Український медичний альманах*. 2012. Т. 15. № 5 (додаток). С.158-160.
126. В. В. Гемонов. Пародонт. 2021. Большая Медицинская Энциклопедия (БМЭ), под редакцией Петровского Б.В., 3-е издание. [online]

Available at:  
 <<https://бмэ.орг/index.php/%D0%9F%D0%90%D0%A0%D0%9E%D0%94%D0%9E%D0%9D%D0%A2>> .

127. Біомаркери в діагностиці хвороб пародонта / А. Potarchuk, Y. Onipko, M. Sabov et al. *Clinical Dentistry*. 2019. 2. P. 19-25.  
<https://doi.org/10.11603/2311-9624.2019.2.10395>.

128. Fibronectin synthesis, but not  $\alpha$ -smooth muscle expression, is regulated by periostin in gingival healing through FAK/JNK signaling / S. S. Kim, G. E. Nikoloudaki, S. Michelsons et al. *Scientific reports*. 2019. 9 (1). P. 2708.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-35805-6>.

129. Кольман Я., Рем К. Г. Наглядная биохимия. Мир, 2000. Т. 469. 469 с.

130. Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия. М: Медицина. 1995. С. 29-33.

131. Г. Маслак. Зміна рівня LCA- та LABA-зв'язування  $\alpha$ 1-кислого глікопротеїну та фібронектину плазми за умов цитостатичної хіміотерапії хворих на хронічний лімфо лейкоз. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2014. Випуск 65. С. 61–70.

132. Visualization of junctional epithelial cell replacement by oral gingival epithelial cells over a life time and after gingivectomy / M. Kato, J. Tanaka, R. Aizawa et al. *Scientific reports*. 2019. 9 (1). P. 7640.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-44065-x>.

133. Островский О.В., Храмов В.А., Попова Т.А. Биохимия полости рта: Учебное пособие. Под ред. проф. О. В. Островского. Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2010. 184 с.

134. Pathogenic relevance of Lactobacillus: a retrospective review of over 200 cases / J. P. Cannon, T.A. Lee, J.T. Bolanos et al. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2005. Vol. 24. № 3. P. 31-49.

135. Варакута О.А. Куц О.Г. Особливості фібрилоархітектоніки в тканині пародонту після встановлення пломбувального матеріалу на тлі

цукрового діабету. *Роль сучасної медицини у житті людини та її місце у формуванні здорового способу життя* : зб. мат. міжнар. наук. – практ. конф. (27-28 березня 2015р). м.Львів. 2015. С. 99-101.

136. Варакута О.А. Куш О.Г. Розподіл колагену III типу в тканині пародонту при експериментальному цукровому діабеті. *Сучасні наукові дослідження представників медичної науки – прогрес медицини майбутнього* : зб. мат. міжн. наук. – практ. конф. (3-4 квітня 2015 р., м. Київ). м. Київ. 2015. С. 10-12.

137. Варакута О. А., Куш О. Г. Особливості будови мікроциркуляторного русла м'яких тканин пародонту при використанні різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету в динаміці. *Вісник проблем біології і медицини*. 2016. Вип. 2, т. 1 (128). С. 364–367.

138. Варакута О. А., Куш О. Г. Морфометричні показники структур пародонта в нормі та при наявності фото полімерної пломби в експерименті. *Приоритети розвитку медичних наук у XXI столітті* : збірник тез наукових робіт. (20-21 березня 2015р., м. Одеса). м. Одеса. 2015. С. 88-90.

139. Варакута О.А. Особливості розподілу глікозаміногліканів, фібронектину і ламініну в тканинах пародонту. *Актуальні проблеми клінічної, теоретичної, профілактичної медицини, стоматології та фармації* : мат. Між нар. науково-практичної конференції. (м. Одеса, 10-11 квітня 2015 р). м. Одеса. 2015. С. 28-30.

140. Варакута О.А. Розподіл глікозаміногліканів в тканинах пародонту при експериментальному цукровому діабеті. *Сучасні аспекти медицини і фармації – 2015* : всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена Дню науки. (м Запоріжжя, 14-15 травня 2015 р.). м. Запоріжжя. 2015. С. 9.

141. Варакута О. А., Куш О. Г. Лектингістохімічна характеристика біоплівки епітелію ясневої борозни в нормі, при наявності пломбувального матеріалу і при експериментальному цукровому діабеті. *Здобутки клінічної*

*та експериментальної медицини* : збірник матер. підсумкової науково-практичної конференції. (м. Тернопіль, 18 червня 2013р.). м. Тернопіль. 2013. С.84-85.

142. Куш О. Г., Варакута О. А., Зідрашко Г. А. Особливості будови біоплівки епітелію ясневої борозни в нормі та при наявності пломбувального матеріалу. *Сучасні аспекти медицини і фармації – 2013* : всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена Дню науки. (м. Запоріжжя, 16-17 травня 2013р.). м. Запоріжжя. 2013. С.63.

143. Куш О.Г., Варакута О. А. Особливості структури біоплівки епітелію зубодесневої борозни в нормі та при наявності пломбувального матеріалу у щурів. *Вопросы экспериментальной и клинической стоматологии* : науч. – практ. конференции с межд. участием «Гофуновские чтения» в рамках празднования 210-летия ХНМУ и международного Дня стоматолога. Харьков. 2015. №11 (1). С. 74-78.

144. Куш О.Г., Варакута О. А. Реактивные морфо-функциональные изменения тканей зуба на постановку фотополимерной пломбы. *X Международная (XIX Всероссийская) Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых : Вестник Российского Государственного медицинского университета*. (г. Москва, 19 марта 2015 г). Москва. 2015. № 2. С. 763.

145. Варакута О. А. Виявлення CON A+, SBA+-B1- лімфоцитів в тканинах парадонту в нормі і при наявності пломбувального матеріалу на тлі цукрового діабету. *Актуальні питання медичної науки та практики* : збірник наукових праць. 2015. Т. 2, №82(1). С. 37-41.

146. Варакута О. А., Куш О. Г. Реактивність лімфоїдного компонента пародонта під час використання різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, №3(31). С. 365–371.



147. Варакута О.А. Лектингістохімічна характеристика лімфоцитів тканини пародонту в нормі і при експериментальному цукровому діабеті. *Гуманітарний та інноваційний ракурс професійної мастейнорсті пошуку молодих учених* : I міжнародна науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих учених. (м. Одеса, 24 квітня 2015 р.). м. Одеса. 2015. С. 28-29.

148. Варакута О.А. Особливості будови лімфоїдного компоненту тканин пародонту при різних типах пломбувального матеріалу. *Морфологічні дослідження – виклики сучасності* : збірник тез доповідей науково-практичної конференції. (м. Суми, 23-24 квітня 2015 р.). м. Суми. 2015. С. 24-25.

149. Варакута О.А. Особливості виявлення Соп А+, SBA+B1-лімфоцитів в тканинах пародонту в нормі і при наявності пломбувального матеріалу. *Стоматологія Придніпров'я* : III міжрегіональна науково-практична конференція. (м. Запоріжжя, 16 квітня 2015р.). м. Запоріжжя. 2015. С. 19-21.

150. Варакута О.А. Особливості дослідження антигенпрезентуючих клітин в епітелії і слизовій оболонці ясен. *Науковий потенціал молоді – прогрес медицини майбутнього* : матеріали XIII науково-практичної конференції з міжнародною участю студентів та молодих вчених. (м. Ужгород, 22-25 квітня 2015 р.). м. Ужгород. 2015 р. С. 55.

151. Куц О.Г., Варакута О. А. Особливості будови лімфоїдного компоненту тканин пародонту при різних типах пломбувального матеріалу. *Морфологічні дослідження – виклики сучасності* : збірник тез доповідей науково-практичної конференції. (м. Суми, 23-24 квітня 2015 р). м.Суми. 2015. С. 24-25.

152. Куц О.Г., Варакута О. А. Особливості розподілу лімфоцитів в тканині пародонту у щурів. *Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини* : збірник тез та доповідей Міжнародної науково-практичної

конференції студентів та молодих вчених. (м. Суми, 10-12 квітня 2013р.). м. Суми. 2013. С.56.

153. Куш О.Г., Варакута О. А. Розподілення лімфоцитів в тканині пародонту щурів. *Современные достижения медицинской и фармацевтической науки* : сб. тезисов I Междунар. интернет-конференция молодых ученых и студентов. (г. Запорожье, 23-25 октября 2012г.). г. Запорожье. 2012. С. 15-16.

154. Куш О.Г., Варакута О.А. Особливості дослідження антигенпрезентуючих клітин в епітелії і слизовій оболонці ясен. *Науковий потенціал молоді – прогрес медицини майбутнього* : матеріали XIII науково-практичної конференції з міжнародною участю студентів та молодих вчених. (м. Ужгород, 22-25 квітня 2015 р.). м. Ужгород. 2015 р. С. 5.

155. Brook IM, Hatton PV. Glass-ionomers: bioactive implant materials: review. *Biomaterials*. 1998. 19. P.565–571.

156. Callis PD, Santini A. Tissue response to retrograde root filling in the ferret canine: a comparison of a glass ionomer cement and gutta-percha with sealer. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1987. 64. P. 475–479.

157. Cytotoxicity of root perforation repair materials / H.A. Makkawy, S. Koka, M.T. Lavin, N.O. Ewoldsen. *Journal of Endodontics*. 1998. 24. P. 477–479.

158. Cytotoxicity of endodontic materials / R.M. Osorio, A. Hefti, F.J. Vertucci, A.L. Shawley. *Journal of Endodontics*. 1998. 24. P. 91–96.

159. Earl M. S., Ibbetson R. J. The clinical disintegration of a glass-ionomer cement. *British Dental Journal*. 1986. 161. P. 287–291.

160. Bodrumlu E. Biocompatibility of retrograde root filling materials: a review. *Australian Endodontic Journal*. 2008. 34 (1). P. 30-35.

161. Glass ionomer and composite resin cements: effects on oral cells / W. F. Caughman, G. B. Caughman, W. T. Dominy et al. *The Journal of prosthetic dentistry*, 1990. 63 (5). P. 513-521.

162. Reactions of connective tissue to compomers, composite and amalgam root-end filling materials / H. Ozbas, M. Yaltirik, B. Bilgic, H. Issever. *International Endodontic Journal*. 2003;36: 281–287.

163. Effects of root-end filling materials on fibroblasts and macrophages in vitro / R. Haglund, J. He, J. Jarvis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology*. 2003. 95. P. 739–745.

164. Responses of oral epithelial cells to dental resin components / C. A. Lefebvre, G. S. Schuster, F. A. Rueggeberg et al. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 1996. 7 (11). P. 965-976.

165. Retrograde root filling with composite and a dentin-bonding agent-2 / J. Rud, E.C. Munksgaard, J.O. Andreasen, V. Rud. *Endodontics & Dental Traumatology*. 1991. 7. P. 118–125.

166. Bone response to orthodontic forces in diabetic Wistar rats / M. E. Villarino, M. Lewicki, A. M. Ubios et al. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2011. 139 (4). P. S76-S82.

167. Histopathologic responses of the dental pulp to calcium-enriched mixture (CEM) and mineral trioxide aggregate (MTA) in diabetic and non-diabetic rats / Z. S. Madani, A. Haddadi, A. Mesgarani et al. *International journal of molecular and cellular medicine*. 2014. 3 (4). P. 263.

168. Panov V., Borisova-Papancheva T. Application of ultraviolet light (UV) in dental medicine. *Journal of Evidence Based Dental Practice*. 2015. P. 194-200.

169. Pedrini D., Gaetti-Jardim Júnior E., Vasconcelos A. C. D. Retention of oral microorganisms on conventional and resin-modified glass-ionomer cements. *Pesquisa Odontológica Brasileira*. 2001. 15 (3). P. 196-200.

170. Van Dijken J. A. N., Persson S., Sjöström S. Presence of *Streptococcus mutans* and lactobacilli in saliva and on enamel, glass ionomer cement, and composite resin surfaces. *European Journal of Oral Sciences*. 1991. 99 (1). P. 13-19.

## ДОДАТОК А1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор  
з науково-педагогічної роботи  
Української медичної  
стоматологічної академіїпрофесор В.М. Дворник«22» 12 2020 року

## АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів, отриманих у дисертаційній роботі, у наукову роботу та  
навчальний процес

1. **Пропозиції для впровадження:** реактивність пародонту при використанні різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету.
2. **Установа розробник:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, 69035; автори – професор кафедри анатомії людини Куш О.Г., асистент кафедри пропедевтичної та хірургічної стоматології Варакута Ольга Анатоліївна.
3. **Джерела інформації:**
  - Куш О.Г. Адаптова методика постановки пломбувального матеріалу в експерименті // О.Г. Куш, О.А. Варакута / Український медичний альманах. – 2012. - Т. 15.- № 5 (додаток). – С.158-160.
  - Варакута О.А. Особливості виявлення CON A+,SBA+-В1-лімфоцитів в тканинах пародонту в нормі і при наявності пломбувального матеріалу// О.А.Варакута, О.Г.Куш, С.О.Чертов/ Стоматологія Придніпров'я: п'ята (V) міжнар. наук.-практ. конф.: зб. наук. пр. – Дніпро: ДЗ ДМА МОЗУ, 2019. – С. 26-28.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра клінічної анатомії і оперативної хірургії Української медичної стоматологічної академії.
5. **Термін впровадження:** листопад 2020 року – грудень 2020 року
6. **Форма впровадження:** у навчальну роботу кафедри клінічної анатомії і оперативної хірургії, в матеріали лекцій та практичних занять при вивченні курсу: «Клінічна анатомія голови», «Клінічна анатомія ротової порожнини» у науково-дослідну роботу кафедри.
7. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелах інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо детального вивчення анатомічних особливостей пародонту при експериментальному цукровому діабеті і особливостей застосування та вибору пломбувального матеріалу.
8. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.
9. **Обговорено та затверджено** на засіданні кафедри, протокол від 21 грудень 2020 року.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри клінічної анатомії і оперативної хірургії  
Української медичної стоматологічної академії  
д. біол. н., проф.

Білаш С.М.

## ДОДАТОК А2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Проректор з науково-педагогічної роботи  
 Тернопільського національного медичного  
 університету імені І.Я. Горбачевського.  
 Проф. А.Г. Пульгай

«19» 03 2020р.




## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції до впровадження: нововведення - «Реактивність пародонту при використанні різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету», (анатомо-експериментальне дослідження).
2. Установа-розробник, автори: Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, 69035; професор кафедри анатомії людини Куш О.Г., асистент пропедевтичної та хірургічної стоматології Варакута Ольга Анатоліївна.
3. Джерело інформації: публікація у фаховому виданні України. Варакута О.А., Куш О.Г. Особливості будови мікроциркуляторного русла м'яких тканин пародонту при використанні різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету в динаміці.- Вісник проблем біології і медицини - 2016. В. випуск 2, - Т. 1 (128), С. -364-367.
4. Впроваджено за 2019/2020 навчальний рік у навчальний процес та наукову роботу на кафедрі анатомії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського
5. Строки впровадження з вересня 2019 року по березень 2020 року.
6. Форма впровадження: в навчальний процес при підготовці студентів медичного факультету та наукову роботу кафедри.
7. Зауваження, додатки: немає.
8. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі і

«14» 03 2020р.

Відповідальний за впровадження:  
 завідувач кафедри анатомії людини  
 Тернопільського національного медичного  
 університету імені І.Я. Горбачевського  
 д.мед.н., професор

 Герасимук І.С.

## ДОДАТОК АЗ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор

за науково-педагогічної роботи

Львівського національного медичного

університету імені Данила Галицького

член-кореспондент НАМН України



Гжегоцький М.Р.

03 2020р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції до впровадження: новонавчення - «Спосіб диференційованого виявлення В<sub>1</sub>-лімфоцитів в гістологічних препаратах
2. Установа-розробник, автори: Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, 69035; професор кафедри анатомії людини Куц О.Г., д.мед.н. професор Волошин Микола Анатолійович, асистент пропедевтичної та хірургічної стоматології Варакута Ольга Анатоліївна.
3. Джерело інформації: Спосіб диференційованого виявлення В<sub>1</sub>-лімфоцитів в гістологічних препаратах / О.Г. Куц, М.А. Волошин, О.А. Варакута і патенто власник Запорізький державний медичний університет. - № у 2006 07176; заявл. 27.06. 2014; опубл. 12.12.2014, Бюл. № 12.
4. Впроваджено за 2019/2020 навчальний рік в навчальний процес та наукову роботу на кафедрі гістології, цитології, ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
5. Строки впровадження з вересня 2019 року по березень 2020 року.
6. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації (п.3): забезпечується отримання більш точних експериментальних даних, та дозволить більш точно й достовірно аналізувати реактивність з боку імунної системи на дію чужорідного агенту.
7. Зуваження, додатки: немає.

«03» 03 2020р.

Відповідальний за впровадження:  
завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології  
Львівського національного медичного  
університету імені Данила Галицького  
д.мед.н., професор

Лушчик О.Д.

## ДОДАТОК А4



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи

ДЗ «ДМА»

професор д.м.н. Гудар'ян О.О.

20 2019

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції до впровадження: нововведення: матеріали дисертаційного дослідження «Реактивність пародонту при використанні різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету», (анатома-експериментальне дослідження)».
2. Установа-розробник, автори: Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, 69035; професор кафедри анатомії людини Куш О.Г., асистент пропедевтичної та хірургічної стоматології Варакута Ольга Анатоліївна.
3. Джерело інформації – наукові роботи у виданнях України:  
Куш О.Г., Варакута О.А. Особливості структури біоплівки епітелію зубодесневої борозни в нормі та при наявності пломбу вального матеріалу у щурів. Вопросы экспериментальной и клинической стоматологии. Сборник научных трудов Выпуск 11. Ч. 1 матер. Науч. – практ. Конференции с межд. Участием «Гофювские чтения» в рамках празднования 210-летия ХНМУ и международного Дня стоматолога Харьков 10 февраля 2015г. – С. 74-078.  
Куш О.Г., Варакута О.А., Зідрашко Г.А. Особливості будови біоплівки епітелію ясневої борозни в нормі та при наявності пломбувального матеріалу 73 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена Дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації - 2013» 16-17 травня 2013р. м. Запоріжжя.- С.63.
4. Впроваджено за 2019/2020 навчальний рік в навчальний процес та наукову роботу на кафедрі клінічної анатомії, анатомії і оперативної хірургії ДЗ «ДМА».
5. Строки впровадження з вересня 2019 року по березень 2020 року.
6. Форма впровадження: в навчальний процес при підготовці студентів медичних факультетів та наукову роботу кафедри.
7. Зуваження, додатки: немає.

«20» 02 2019р.

Відповідальний за впровадження:  
завідувач кафедри  
клінічної анатомії, анатомії і оперативної хірургії  
ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства  
охорони здоров'я України»  
д.м.н., професор

Нефьодова О.О.

## ДОДАТОК А5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 проректор з науково-педагогічної  
 роботи  
 Запорізького державного  
 медичного університету  
 професор Візир В.А.



« 01 » 2020 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції до впровадження: нововведення – матеріали дисертаційної роботи «Реактивність пародонту при використанні різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету» (анатоμο-експериментальне дослідження).
2. Установа-розробник, автори: Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, 69035; професор кафедри анатомії людини Куш О.Г. асистент кафедри пропелетичної та хірургічної стоматології Варакута Ольга Анатоліївна.
3. Джерело інформації: публікації: Публікація у фаховому виданні України:

Варакута О. А. Реактивність лімфоїдного компонента пародонта під час використання різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету / О. А. Варакута, О. Г. Куш. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2019. – Т. 12, №3(31). – С. 365–371. Варакута О. А.

Виявлення CON A+, SBA+B1- лімфоцитів в тканинах пародонту в нормі і при наявності пломбувального матеріалу на тлі цукрового діабету/ О. А. Варакута // Актуальні питання медичної науки та практики. Збірник наукових праць. – 2015. – Т. 2, №82(1). – С. 37-41.

Варакута О.А. Лектингістохімічна характеристика лімфоцитів тканини пародонту в нормі і при експериментальному цукровому діабеті/О. А. Варакута // Матеріали I міжнародної науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих учених «Гуманітарний та інноваційний ракурс професійної майстерності: пош уку молодих учених» Частина II- 24 квітня 2015 р. м. Одеса. – С. 28-29.

Варакута О.А. Особливості будови лімфоїдного компоненту тканини пародонту при різних типах пломбувального матеріалу / О. А. Варакута //Морфологічні дослідження – виклики сучасності. Збірник тез доповідей. Науково-практична конференція. - Суми, 23-24 квітня 2015 р.- С. 24-25.

Варакута О.А. Особливості виявлення Con A+, SBA+B1- лімфоцитів в тканинах пародонту в нормі і при наявності пломбу





**ДОДАТОК Б**  
**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ**  
**ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Куш О. Г., Варакута О. А. Адаптова методика постановки пломбувального матеріалу. *Укр. мед. альманах*. 2012. Т. 15, № 5 (додаток). С. 158–160.
2. Куш О. Г., Варакута О. А. Особливості структури біоплівки епітелію зубодесневої борозни в нормі та при наявності пломбувального матеріалу у щурів. *Вопросы экспериментальной и клинической стоматологии* : сб. науч. тр. Харьков : ХНМУ, 2015. Вып. 11, ч. 1 : материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием «Гофунговские чтения» в рамках празднования 210-летия ХНМУ и междунар. Дня стоматолога, Харьков 10 февр. 2015 г. С. 74–78.
3. Варакута О. А. Виявлення CONA<sup>+</sup>, SBA<sup>+</sup>-B<sub>1</sub>- лімфоцитів в тканинах парадонту в нормі і при наявності пломбувального матеріалу на тлі цукрового діабету. *Актуальні питання медичної науки та практики* :зб. наук. праць. Запоріжжя, 2015. Вип. 82, т. 2, кн. 1. С. 37–41.
4. Варакута О. А., Куш О. Г. Особливості розподілу глікозаміногліканів у пародонті щурів при наявності фотополімерної пломби і цукрового діабету. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2016. Т. 15, № 1 (55). С. 42–45.
5. Варакута О. А., Куш О. Г. Особливості будови мікроциркуляторного русла м'яких тканин парадонту при використанні різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету в динаміці. *Вісник проблем біології і медицини*. 2016. Вип. 2, т. 1 (128). С. 364–367.
6. Варакута О. А., Куш О. Г. Реактивність лімфоїдного компонента парадонта під час використання різних пломбувальних матеріалів на тлі

експериментального цукрового діабету. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2019. Т. 12, № 3 (31). С. 365–371.

7. Varakuta O. A., Kushch O. G. Features of morpho functional changes in periodontal structures in rats with the presence of a photo of a polymer or cement seal. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10 (10). P. 300–313. DOI : <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2020.10.10.029>.

8. Кущ О. Г., Варакута О. А. Розподілення лімфоцитів в тканині пародонту щурів. *Современные достижения медицинской и фармацевтической науки* : сб. тез. I Междунар. интернет-конф. молодых ученых и студентов, 23-25 окт. 2012 г., г. Запорожье. Запорожье, 2012. С. 16.

9. Кущ О. Г., Варакута О. А. Особливості розподілу лімфоцитів в тканині пародонту у щурів. *Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини* : зб. тез та доп. міжнар. наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених (Суми, 10-12 квіт. 2013р.). Суми, 2013. С. 56.

10. Кущ О. Г., Варакута О. А., Зідрашко Г. А. Особливості будови біоплівки епітелію ясневої борозни в нормі та при наявності пломбувального матеріалу. *Сучасні аспекти медицини і фармації - 2013* : зб. тез. доп. Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, присвяч. Дню науки, м. Запоріжжя, 16-17 трав. 2013 р. Запоріжжя, 2013. С. 63.

11. Варакута О. А. Характеристика композиційного полімерного пломбувального матеріалу. *Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук* : III регіон. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих учених з всеукр. участю, м. Запоріжжя, 29 листоп. 2014 р. Запоріжжя, 2014. С. 243–245.

12. Варакута О. А. Особливості розподілу глікозаміногліканів, фібронектину і ламініну в тканинах пародонту. *Актуальні проблеми клінічної, теоретичної, профілактичної медицини, стоматології та фармації* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Одеса, 10-11 квіт. 2015 р. Одеса, 2015. С. 28–30.

13. Варакута О. А., Кущ О. Г., Чертов С. О. Особливості виявлення  $\text{ConA}^+$ ,  $\text{SBA}^+\text{V}_1$ -лімфоцитів в тканинах пародонту в нормі і при наявності пломбувального матеріалу. *Стоматологія Придніпров'я* : Третя (III) міжрегіон. наук.-практ. конф., м. Дніпропетровськ, м. Запоріжжя, 16 квіт. 2015 р. Дніпропетровськ ; Запоріжжя, 2015. С. 19–21.
14. Кущ О. Г., Варакута О. А. Особливості будови лімфоїдного компоненту тканин пародонту при різних типах пломбувального матеріалу. *Морфологічні дослідження - виклики сучасності* : зб. тез доп. наук.-практ. конф., м. Суми, 23-24 квіт. 2015 р. Суми, 2015. С. 24–25.
15. Варакута О. А., Кущ О. Г. Лектингістохімічна характеристика лімфоцитів тканини пародонту в нормі і при експериментальному цукровому діабеті. *Гуманітарний та інноваційний ракурс професійної мастейнорсті: пошуки молодих учених* : матеріали I міжнар. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих учених, м. Одеса, 24 квіт. 2015 р. Одеса, 2015. Ч. II. С. 28–29.
16. Кущ О. Г., Варакута О. А. Особливості дослідження антигенпрезентуючих клітин в епітелії і слизовій оболонці ясен. *Науковий потенціал молоді - прогрес медицини майбутнього* : матеріали XIII наук.-практ. конф. з міжнар. участю студентів та молодих вчених, м. Ужгород, 22-25 квіт. 2015 р. Ужгород, 2015. С. 5.
17. Варакута О. А. Особливості архітектоніки сполучної тканини ясен в нормі та при її структурній перебудові на тлі експериментального цукрового діабету. *Матеріали XIX міжнар. мед. конгресу студентів і молодих вчених, присвяч. пам'яті ректора, чл.-кор. НАМН України, проф. Ковальчука Л.Я.*, м. Тернопіль, 27-29 квіт. 2015 р. Тернопіль, 2015. С. 318.
18. Варакута О. А. Розподіл глікозаміногліканів в тканинах пародонту при експериментальному цукровому діабеті. *Сучасні аспекти медицини і фармації - 2015* : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, присвяч. Дню науки, м. Запоріжжя, 14-15 трав. 2015 р. Запоріжжя, 2015. С. 9.

19. Куш О. Г., Варакута О. А. Реактивные морфо-функциональные изменения тканей зуба на постановку фотополимерной пломбы. *Вестн. Рос. Гос. Мед. ун-та*. 2015. № 2 : X Междунар. (XIX Всерос.) Пироговская науч. Мед. Конф. студентов и молодых ученых, г. Москва, 19 мар. 2015 г. С. 763.

20. Варакута О. А. Выявление  $CONA^+$ ,  $SBA^+-B_1$ - лимфоцитов в тканях пародонта в норме и при наличии пломбировочного материала на фоне сахарного диабета. *Актуальні питання анатомії, гістології, ембріології, топографічної анатомії*: тези доп. VI конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України. Запоріжжя, 16-18 вересня 2015 р. Запоріжжя, 2015.– С. 17-18.

21. Варакута О. А. Особенности строения биопленки зубодесневой борозды на фоне экспериментального сахарного диабета. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2015*: сб. тез. докл. 69-й науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием. – Минск: БГМУ, 2015. – С. 463.

22. Варакута О. Особливості накопичення колагенів в тканині пародонту в нормі та після встановлення фотополімерного та цементного пломбувального матеріалу. *Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук*: зб. тез доп. V регіон. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих учених, присвяч. 30-річчю біол. ф-ту ЗНУ (м. Запоріжжя, 26 листоп. 2016 р. ). - Запоріжжя : ЗНУ, 2016. – С. 88-89.

23. Варакута О. А., Куш О. Г. Розподіл глікозаміногліканів в пародонті щурів при наявності різних типів пломбувального матеріалу. *Science and life : Proc. of articles the international scientific conference, Czech Republic, Karlovy Vary - Kyiv, Ukraine, 22 December 2017*. Karlovy Vary: Skleněný Můstek. С. 176–182.

## ДОДАТОК В

### ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. I Международная интернет-конференция молодых ученых и студентов, 23-25 окт. 2012 г.; «Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини» Міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих вчених (Суми, 10-12 квіт. 2013р.);
2. «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2013» Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена Дню науки, м. Запоріжжя, 16-17 трав. 2013 р.;
3. «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук» науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих учених з всеукраїнською участю, м. Запоріжжя, 29 листопада 2014 р.;
4. «Актуальні проблеми клінічної, теоретичної, профілактичної медицини, стоматології та фармації» міжнародна науково – практична конференція, м. Одеса, 10-11 квіт. 2015 р.;
5. «Стоматологія Придніпров'я» III міжрегіональна науково-практична конференція, м. Дніпропетровськ, 16 квіт. 2015 р.;
6. «Морфологічні дослідження - виклики сучасності» науково-практична конференція, м. Суми, 23-24 квіт. 2015 р.;
7. «Гуманітарний та інноваційний ракурс професійної майстерності: пошуки молодих учених» I міжнародна науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих учених, м. Одеса, 24 квітня 2015 р.;
8. «Науковий потенціал молоді - прогрес медицини майбутнього» XIII науково-практична конференція з міжнародною участю студентів та молодих вчених, м. Ужгород, 22-25 квіт. 2015 р.;
9. «XIX міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених, присвяч. пам'яті ректора, чл.-кор. НАМН України, проф. Ковальчука Л.Я.», м. Тернопіль, 27-29 квіт. 2015 р.;

10. «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2015» Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена Дню науки, м. Запоріжжя, 14-15 трав. 2015 р.;
11. «X Международная (XIX Всероссийская) Пироговская научная Медицинская Конференция студентов и молодых ученых, г. Москва, 19 мар. 2015 г.;
12. «Актуальні питання анатомії, гістології, ембріології, топографічної анатомії» VI конгрес анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України. Запоріжжя, 16-18 вересня 2015 р.;
13. «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2015» 69-й науково-практична конференція студентів і молодих вчених з міжнародною участю, м. Мінськ, БГМУ, 2015;
14. «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук» V регіональна науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих учених, присвячена 30-річчю біологічного факультету ЗНУ (м. Запоріжжя, 26 листоп. 2016 р.);
15. «Science and life» the international scientific conference, Czech Republic, Karlovy Vary, 22 December 2017.