

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
«ІНСТИТУТ СТОМАТОЛОГІЇ ТА ЩЕЛЕПНО-ЛИЦЕВОЇ ХІРУРГІЇ
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»**

Кваліфікована наукова
праця на правах рукопису

РОЖКО ПАВЛО ДМИТРОВИЧ

УДК 616.314-089.23+616.379-008.64

**ДИСЕРТАЦІЯ
ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ПРОФІЛАКТИКИ
УСКЛАДНЕНЬ У ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ ПРИ
ОРТОПЕДИЧНОМУ ЛІКУВАННІ НА ДЕНТАЛЬНИХ ІМПЛАНТАТАХ
(клініко-експериментальне дослідження)**

14.01.22-стоматологія

Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень.

Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Науковий консультант: Шнайдер С. А., доктор медичних наук, професор

Одеса – 2021

АНОТАЦІЯ

Рожко П.Д. Патогенетичне обґрунтування профілактики ускладнень у пацієнтів з цукровим діабетом при ортопедичному лікуванні на дентальних імплантатах. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.22 – стоматологія. – Державна установа «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України», Одеса, 2020.

Метою роботи було експериментальне, клініко-лабораторне та клінічне обґрунтування комплексного ортопедичного лікування пацієнтів з цукровим діабетом.

Для патогенетичного обґрунтування вмісту таких лікувально-профілактичних заходів необхідно було попереднє проведення експериментальних досліджень на тваринах при моделюванні цукрового діабету (ЦД) і встановленні імплантатів, проведення генетичних і епігенетичних досліджень за участю пацієнтів з ЦД, біохімічних і біофізичних досліджень у них стану тканин пародонта, ротової рідини і оцінки клінічних результатів лікування.

В експерименті була проведена оцінка біохімічних показників сироватки крові щурів при моделюванні ЦД 2 типу, встановлення імплантатів та проведення лікувально-профілактичних заходів. Відтворення ЦД 2 типу у щурів здійснювали за допомогою внутрішньом'язового введення протамін сульфату («Merck», Німеччина) в дозі 18 мг / кг щодня двічі на день протягом 5 днів і після двох днів перерви – ще протягом наступних 5 днів. Лікувально-профілактичний комплекс (ЛПК), що вводиться тваринам з першого дня моделювання ЦД 2 типу, включав з розрахунку на 1 кг маси тіла «ПОІС» (150 мг/кг), фітоконцентрат «Імунікум» (5 крапель / кг), «Селен + Цинк актив» (25 мг / кг - 0,9 мг / кг цинку і 4,5 мкг / кг селену), «Алфавіт» і місцево у вигляді зрошення «Екстракт гінкго білоба і виноградних кісточок» (1/10 з водою).

Всім тваринам під тіопенталовим наркозом (20 мг / кг) фіксували імплантат діаметром 1,2 мм і довжиною 4 мм (використовується в ортодонтії як анкера). Крім того, для профілактики дисбіозу використовувалися антидисбіотичні засоби (АДЗ), що розрізняються за механізмом своєї фармакологічної дії. Тварин виводили з експерименту через 2 тижні після установки імплантатів (або 4 тижні від початку експерименту і моделювання ЦД 2 типу). Загальна тривалість експерименту склала 28 днів.

Оцінка біохімічних показників сироватки крові щурів в процесі моделювання цукрового діабету 2 типу, фіксації імплантатів та проведення лікувально-профілактичних заходів показала, що відтворення ЦД 2 типу викликало достовірне збільшення вмісту глюкози на 24,0%. Профілактичне введення комплексу препаратів в поєднанні з регулярним зрошенням порожнини рота тварин на фоні розвитку ЦД 2 типу ефективно запобігало підвищенню рівня цукру в крові щурів. Моделювання патології ЦД 2 типу на фоні збільшення глюкози призвело до зниження антиоксидантного захисту організму щурів 2-ї групи, про що свідчило зменшення активності каталази на 18,6% в сироватці крові цих тварин. Установка імплантатів щурам 3-ї групи викликала ще більш значне зниження активності антиоксидантної системи – зменшення активності каталази на 34,9%. Профілактичні заходи ефективно запобігали зниженню активності сироваткової каталази, що викликане фіксацією імплантатів на фоні розвитку експериментального ЦД 2 типу. Активність основного ферменту антиоксидантного захисту організму в сироватці крові щурів при цьому достовірно підвищилася і відповідала значенням у інтактних тварин. Результати свідчать про антиглікемічний та антиоксидантний вплив компонентів запропонованого ЛПК в умовах розвитку ЦД 2 типу та експериментальної установки імплантатів. У сироватці крові щурів, у яких моделювали на ЦД 2 типу, було зареєстровано також підвищення активності уреазы в 1,7 рази з одночасним зменшенням активності лізоциму на 29,5%. Це свідчить про зниження неспецифічного антимікробного захисту в організмі при розвитку ЦД 2 типу і, як наслідок, розвиток

бактеріємії. Після фіксації імплантатів у щурів 3-ї групи досліджувані показники погіршилися ще в більшій мірі: активність уреазі підвищилася в 2,3 рази, а активність лізоциму знизилася на 48,9% в порівнянні зі значеннями у інтактних щурів. Після проведення профілактичних заходів активність уреазі в сироватці крові щурів суттєво зменшилася і відповідала нормальному рівню, а рівень активності лізоциму у цих щурів достовірно підвищився, але не досягав норми. Моделювання ЦД 2 типу у тварин викликало збільшення ступеня дисбіозу в 2,4 рази. Установка імплантатів щурам призвела до більш суттєвого підвищення ступеня генералізованого дисбіозу – збільшення в 4,5 рази в порівнянні з інтактною групою. Введення профілактичних препаратів і зрошення порожнини в порожнині рота у тварин з ЦД 2 типу після установки імплантатів дозволило істотно знизити ступінь дисбіозу практично до нормального рівня. У щурів, яким моделювали ЦД 2 типу, спостерігалось достовірне збільшення маркерів запалення: вмісту малонового діальдегіду (МДА) – на 32,4% і активності еластази – на 31,6%. Отримані дані свідчать про наявність у щурів цієї групи системного запалення та активації перекисного окислення ліпідів. Фіксація імплантатів щурам сприяла ще більшому підвищенню рівня МДА в сироватці крові, що вказує на інтенсифікацію ПОЛ в організмі тварин при цьому. Комплекс профілактичних препаратів дозволив знизити вміст МДА на 23,1% і активність еластази – на 15,2%, що свідчить про антиоксидантну та протизапальну ефективність розробленого ЛПК.

При моделюванні у щурів ЦД 2 типу виявлено в яснах зниження рівня гіалуронової кислоти (на 23,0%), що свідчать про збільшення проникності слизової оболонки порожнини рота (СОПР) тварин, оскільки гіалуронова кислота виконує функцію міжклітинного «цементу». Проведення профілактики перед установкою імплантатів запобігало зниженню у щурів рівня гіалуронової кислоти і сприяло збереженню її нормального рівня. Інтенсифікація запалення при розвитку ЦД 2 типу тягне за собою збільшення активності уреазі (на 69,4%) і зменшення активності лізоциму (на 23,5%), які нормалізуються при проведенні лікувально-профілактичних заходів. При

моделюванні ЦД 2 типу в яснах тварин спостерігалось збільшення ступеня дисбіозу в 2,1 рази, що свідчить про порушення мікробіоценозу в порожнині рота. Фіксація імплантатів у щурів призвела до додаткового збільшення ступеня дисбіозу в 1,7 рази. Проведення профілактичних заходів сприяло суттєвому зниженню ступеня дисбіозу в порожнині рота тварин, незважаючи на те, що цей показник перевищував нормальні значення. Моделювання ЦД 2 типу у щурів викликало зменшення активності каталази на 14,6% і підвищення рівня МДА на 38,9%, в результаті чого індекс АПІ зменшився на 38,1%. Установка імплантатів призвела до подальшого збільшення рівня МДА і зниження рівня АПІ. Проведення профілактичних заходів у щурів з ЦД 2 типу після фіксації імплантатів ефективно попереджало порушення балансу «антиоксиданти-оксиданти» в яснах тварин.

В експерименті була проведена оцінка морфологічних порушень в порожнині рота щурів при моделюванні ЦД 2 типу та установки імплантатів і ефективності лікувально-профілактичних заходів. У тварин, у яких моделювали ЦД 2 типу, були виявлені патологічні зміни в порівнянні з групою інтактних щурів з боку СОПР, підслизового шару і судин мікроциркуляторного русла. При ЦД 2 типу в тканинах пародонта щурів розвивалися ішемічні і дистрофічні процеси, що веде до розвитку у тварин деструктивно-запальних процесів, одним з факторів патогенезу якого є активація апоптозу, компенсаторна активація ангиогенезу, про що свідчить підвищення експресії VAX в 1,81 рази, VEGF в 2,89 рази. Фіксація імплантатів у щурів на фоні моделювання цукрового діабету поглиблювала морфологічну картину деструктивно-запальних процесів в ротовій порожнині тварин з триваючими вазоконстрикторними змінами мікроциркуляторного русла, зі звуженням артеріол і розширенням венул, що лежать в основі подальшої активації апоптозу і перебудови тканини ротової порожнини. Отримані результати свідчать про необхідність розробки лікувально-профілактичних заходів супроводу ортопедичного лікування з використанням імплантатів у пацієнтів з цукровим діабетом. Запропонована схема лікувально-

профілактичних заходів на фоні моделювання ЦД і установки імплантатів призвела у щурів до нормалізації порушеної судинної картини мікроциркуляторного русла, до зниження активності апоптичних процесів, до зменшення запальних процесів м'яких і твердих тканин ротової порожнини і до зниження активності резорбційних процесів твердих тканин.

Вивчення стану генів, пов'язаних з кістковим метаболізмом, як при ортопедичному, так і при ортодонтичному лікуванні зубів у пацієнтів з метаболічними порушеннями представляє науковий і практичний інтерес. Нами був вивчений поліморфізм генів, безпосередньо або побічно пов'язаних з кістковим метаболізмом, у пацієнтів з метаболічними порушеннями, спрямованих на ортопедичне лікування. *Ген PON1* (параоксонази 1) є геном, що кодує білок. Захворювання, пов'язані з PON1, включають також мікросудинні ускладнення. Поліморфізми в цьому гені пов'язують з діабетом та ішемічною хворобою серця. У наших дослідженнях при наявності у пацієнтів метаболічних відхилень в гені PON1 становили 96,4% випадків (57,1% - гетерозиготи, 39,3% – мутації). *Ген APOE* (аполіпопротеїн E) являє собою білок, що кодує ген. Мутації в цьому гені призводять до гіперліпопротеїнемії типу III, якому властиво підвищення рівня холестерину і тригліцеридів у плазмі крові. У гені APOE, що відповідає за метаболізм ліпопротеїнів і первинну регенерацію кісткових тканин, відхилення від норми в нашому випадку становили 57,1% (гетерозиготи). *Ендотеліальний ген NOS3* (e-NOS) являє собою білок, що регулює реакцію кісток на навантаження. У гені NOS в 42,9% випадків ми відзначали мутації і гетерозиготи. *Ендотеліальний фактор росту судин (VEGF)* відіграє ключову роль в процесі атіогенезу, а також збільшує проникність судин, стимулює зростання ендотеліальних клітин судин, пригнічує апоптоз. Алейні варіанти VEGF пов'язані з мікросудинними ускладненнями при діабеті та атеросклерозі. Порушення в VEGF в нашому дослідженні склали 96,5% (67,9% – гетерозиготи і 28,6% – мутації). Оцінку здатності утворення кістки проводили по гену *TGF*, відхилення якого від норми в нашому випадку відзначалися в

50% випадків. *TGF* – мультипотентний цитокин, є модулятором клітинного росту, інгібує проліферацію і міграцію ендотеліальних клітин, імунну систему, пригнічуючи прозапальну цитокинову відповідь. Вивчення продукції ростового фактору може бути використано для оцінки динаміки перебігу захворювань. Захворювання, пов'язані з геном *Coll1A1* включають недосконалий остеогенез. У нашому випадку порушення в генах колагеноутворення кістки склали 32%. Ген *VDR* кодує рецептор вітаміну D₃. Мішені для рецептора вітаміну D₃ головним чином беруть участь у метаболізмі мінералів і регулюють ряд інших метаболічних шляхів, що беруть участь в імунній відповіді. У гені *VDR* гетерозиготи і мутації в нашому випадку склали 75%.

Генетичну основу схильності до довговічності зубних імплантатів складають складні взаємодії між генами колагену, ферментами металопротеїназ і тканинними інгібіторами, фенотипічні ефекти яких в процесі osteointegration можуть реалізуватися по-різному у пацієнтів. У нашому дослідженні молекулярно-генетичне тестування пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, які потребують ортопедичного лікування з використанням дентальних імплантатів, визначило групу «ризик» з функціонально неповноцінним алелем T поліморфізму -1997G / T гена *Coll1A1*. Серед молекул, залучених у ремоделюванні кісткової тканини, важливу роль відіграють ферменти з групи матриксних металопротеїназ (*MMPs*). Генотипування обстежених нами пацієнтів показало, що функціональні алелі металопротеїназ *MMP1-1607insG* і *MMP9 A-8202G* становлять 68,2% і 45,5% відповідно. Мінорний алель 2G *MMP1* був виявлений у 31,8% пацієнтів. Мінорний алель G гена *MMP9* був представлений у 54,5%. Гомозиготний генотип-2G / 2G і гетерозиготний G / 2G гена *MMP1* становили 18,2% і 27,3%. 54,5% пацієнтів мали функціонально повноцінний генотип G / G. Функціональний генотип AA -820 гена *MMP9* був представлений лише у 18,2% обстежених пацієнтів. Функціонально неповноцінні генотипи становлять 27,3% для гомозиготного GG і 54,5% для гетерозиготного варіанти

AG поліморфізму А-8202G гена MMP9. MMP-9 бере участь в процесах запалення, ремоделювання тканини, загоєння ран, мобілізації матрикс-пов'язаних факторів росту і процесингу цитокінів. Поліморфізми в генах MMP в значній мірі пов'язані з рядом патологій зубів і кісток, і їх присутність в переїмплантній рідині може спровокувати захворювання переїмплантата з подальшою втратою кісткової маси. Нами було показано, що сироваткові рівні MMP1 діабетичних пацієнтів достовірно були вище, ніж у осіб з нормальним метаболізмом глюкози. *Ген TIMP-1* відіграє певну роль в регуляції активних форм MMP-1, MMP-3 і MMP-9. Нами було проведено дослідження концентрації TIMP-1 в ясенній кривікулярній (щілинній) рідині у хворих з ЦД 2 типу. Концентрація TIMP-1 у пацієнтів з ЦД були схожі з аналогічними показниками у пацієнтів з гінгівітом / хронічним генералізованим пародонтитом (ХГП) без ЦД, тому було зроблено припущення, що ЦД не робить істотного впливу на концентрацію TIMP-1 в ясенній кривікулярній рідині. Запальний процес, викликаний ушкодженням тканини під час імплантації, стимулює вивільнення бета-білка TGF. При недостатній експресії TGF- β порушується регуляція виробництва імуносупресивних цитокінів, включаючи IL-4 і IL-10. Відповідальним за подальшу диференціацію остеобластів і зростання кістки є інсуліноподібний фактор росту I (IGF-I). Генотипування обстежених пацієнтів показало, що частота алелей (2716 G / A, rs6214) інсулінового фактору росту IGF-1 G і A однакова і становить 50%, що перевищує популяційні показники по Європі. Була досліджена частота народження алелів і генотипів поліморфізму 3323 G / A гена IGF-2 у пацієнтів з діабетом 2 типу, спрямованих на дентальну імплантацію. Встановлено, що серед обстежених пацієнтів по поліморфізму 3323 G / A гена IGF-2 переважає мінорний алель A (68,2%). Алель G виявлено у 31,8% пацієнтів. Алель G представлений тільки в гетерозиготній формі Ga в 63,6%. Частота мінорного генотипу AA становила 36,4%.

Таким чином, отримані результати досліджень свідчать про те, що фактори росту роблять визначальний вплив на швидкість і якість репаративних процесів у хворих на ЦД при дентальній імплантації.

Передопераційна підготовка при дентальній імплантації повинна включати лабораторні дослідження, спрямовані на оцінку генетичних факторів, які впливають на остеоінтеграцію і можливу довговічність зубних імплантатів, тобто генетичний аналіз повинен використовуватися профілактично, як частина планування імплантації. Стан з високим ризиком розвитку цукрового діабету і метаболічного синдрому (МС) створює передумови до формування запально-деструктивних уражень пародонту, що необхідно враховувати при ортопедичному лікуванні таких пацієнтів.

У пацієнтів при ЦД 2 типу епігенетичні механізми можуть бути залучені в регуляцію генів, які диференційовано експресуються. Порушення механізмів епігенетичної регуляції безпосередньо або побічно пов'язане з різноманітними захворюваннями, в тому числі, при ЦД 2 типу. Нами була зроблена спроба використання аналізу аберантного метилювання *LINE1* для оцінки прогресії метаболічного синдрому, діабету 2 типу при дентальній імплантації. Було проведено вивчення метилювання довгих повторюваних послідовностей гена *LINE1* у хворих, спрямованих на дентальну імплантацію. Аналіз метилювання проводили в тканинах ясен і в крові пацієнтів. Було показано, що в тканинах ясен метилювання ДНК *LINE1* у хворих з ХГП і метаболічними порушеннями було достовірно нижче, ніж у пацієнтів тільки з ХГП, а у пацієнтів з ЦД 2 типу було ще нижче. Гіпометилювання промотора *MMP13* було пов'язано з розвитком ХГП і його прогресією на фоні метаболічного синдрому і діабету 2 типу. Виявлене в результаті дослідження зниження метилювання промотора гена *IL-6* призводить до підвищення експресії металопротеїнази *MMP13*. В результаті статистичного аналізу була виявлена позитивна кореляція між вмістом *IL-6* і *MMP13* у хворих з ХГП. Кореляційний аналіз між вмістом *IL-6* і *MMP13* в ротовій рідині пацієнтів з ХГП показав високий позитивний взаємозв'язок ($r = 0,50$) цих цитокінів. Тобто спостерігалася асоціація

гіпометилювання промоторів генів IL-6 і MMP13 з їх активацією, що веде до руйнування тканин в осередку запалення і збільшенню перебігу ХГП.

Отримані результати генетичних та епігенетичних досліджень необхідно враховувати для прогнозування можливих ускладнень при імплантології, а також при розробці лікувально-профілактичних заходів супроводу такого лікування при цукровому діабеті.

Була проведена клінічна та клініко-лабораторна оцінка ефективності розробленого лікувально-профілактичного комплексу супроводу ортопедичного лікування з використанням імплантатів пацієнтів з ЦД.

Ускладнення після операції були розділені на 3 ступеня. Аналіз результатів показує, що в основній групі, що отримувала ЛПК, без ускладнень було 84,70% пацієнтів, в той час як в групі порівняння – 40,69%. В результаті застосування розробленого ЛПК супроводу ортопедичного лікування у пацієнтів основної групи легкий та середній ступінь післяопераційних ускладнень зустрічались відповідно в 3,3 рази і 3,5 рази рідше, ніж в групі порівняння, що отримувала тільки базову терапію, а тяжка форма при цьому була відсутня.

Через 3, 6 місяців і через 1 рік були відзначені істотні відмінності в основній групі і в групі порівняння показників стану тканин пародонта і рівня гігієни. Індекс поширеності процесу запалення РМА,% в групі порівняння через 1 рік спостереження збільшився на 7,9%, в той час як в основній групі він збільшився лише на 1,5%. Індекс кровоточивості за 1 рік спостережень збільшився в групі порівняння на 0,14, а в основній групі він зменшився на 0,09. Індекс Silness-Loe за 1 рік спостережень в групі порівняння зменшився на 13,6%, а в основній групі він знизився на 42,5%. Індекс Stallard в динаміці спостереження в групі порівняння за 1 рік зменшився на 23,3%, а в основній групі – на 49,4 %

Проведені біохімічні дослідження ротової рідини у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу на різних етапах ортопедичного лікування свідчить про те, що в основній групі, що отримувала ЛПК, активність еластази через 1 рік

установки імплантатів була в 4 рази нижче, ніж в групі порівняння, вміст МДА було в 1,7 разів менше, активність уреаз - в 2 рази менше, активність каталази – в 2,6 раз вище, індекс АПІ – в 4,7 раз вище, активність лізоциму – в 2 рази вище, а ступінь дисбіозу – в 4,3 рази менше. При цьому у пацієнтів основної групи через 1 рік спостережень в ротовій рідині був достовірно нижчий рівень тригліцеридів, вміст холестерину і глюкози. Отримані результати свідчать про високу протизапальну та антиоксидантну ефективність запропонованого ЛПК в процесі ортопедичного лікування пацієнтів з ЦД, нормалізацію при цьому мікробіоценозу в порожнині рота, порушених показників обмінних процесів.

Проведене спектроколориметричне вивчення стану тканин пародонта і його мікрокапілярного русла у хворих на ЦД 2 типу в процесі комплексного ортопедичного лікування з використанням імплантатів показало достовірне зниження завдяки ЛПК ступеня запалення у пацієнтів основної групи і нормалізацію реакції мікрокапілярного русла тканин пародонта на регламентоване жувальне навантаження.

Крім того, в основній групі у пацієнтів, які отримували ЛПК, достовірно покращилися показники жирового обміну (індекс маси тіла, жирова маса, індекс жирової маси, відсоток жирової маси, рівень вісцерального жиру).

Проведені денситометричні дослідження якості кістки у пацієнтів з ЦД 2 типу в процесі ортопедичного лікування свідчать про те, що через 1 рік спостереження у пацієнтів основної групи, що одержували ЛПК, широкосмугове затухання ультразвукової хвилі в кісткових тканинах (BUA, дБ / МГц), що характеризує якість структури кісткової тканини, в 1,6 рази було вище, ніж у пацієнтів групи порівняння, а індекс якості кістки (BQI, ум.од.) – в 1,27 рази.

Ключові слова: ортопедичне лікування, імплантати, цукровий діабет, експеримент, генетичні маркери, клініко-лабораторні результати.

SUMMARY

Rozhko P.D. Pathogenetic study prevention of complications in diabetic patients with orthopedic treatment on dental implants. – Qualifying scientific work on the rights of manuscripts.

Dissertation for the degree of Doctor of Medical Sciences in specialty 14.01.22 – Stomatology. – State institution "Institute of Stomatology and Maxillofacial Surgery, NAMS of Ukraine", Odessa, 2021

The aim of the work was experimental, clinical-laboratory and clinical substantiation of complex orthopedic treatment of patients with diabetes mellitus.

For the pathogenetic substantiation of the content of such therapeutic and prophylactic measures, it was necessary to carry out preliminary experimental studies on animals in modeling diabetes mellitus (DM) and installing implants, to conduct genetic and epigenetic studies with the participation of patients with DM, biochemical and biophysical studies of the state of parodontal tissues in them, oral fluids and clinical outcomes of treatment.

In the experiment, the biochemical parameters of the blood serum of rats were assessed when modeling type 2 diabetes mellitus, installing implants and carrying out therapeutic and prophylactic measures. Reproduction of type 2 DM in rats was carried out by introducing protamine sulfate ("Merck", Germany) at a dose of 18 mg / kg twice a day for 5 days and after a two-day break for another 5 days. Treatment and prophylactic complex (TPC), administered to animals from the first day of modeling type 2 DM, included "*POIS*" (150 mg / kg) per 1 kg of body weight, "*Imunikum*" phytoconcentrate (5 drops / kg), "*Selenium + Zinc active*" (25 mg / kg - 0.9 mg / kg zinc and 4.5 mcg / kg selenium), "*Alphabet*" and topically in the form of irrigation "*Ginkgo biloba and grape seed extract*" (1/10 with water). All animals under thiopental anesthesia (20 mg / kg) were fixed with an implant with a diameter of 1.2 mm and a length of 4 mm (used in orthodontics as an anchor). In addition, for the prevention of dysbiosis, antidisbiotic agents were used, differing in the mechanism of their pharmacological action. The animals were withdrawn from the

experiment 2 weeks after the implantation (or 4 weeks from the beginning of the experiment and DM type 2 simulation). The experiment lasted 28 days.

Evaluation of the biochemical parameters of rat blood serum in the process of modeling type 2 DM, fixing implants and carrying out therapeutic and prophylactic measures showed that the reproduction of type 2 DM caused a significant increase in glucose content by 24.0 %. Prophylactic administration of a complex of drugs in combination with regular irrigation of the oral cavity of animals on the background of the development of type 2 DM effectively prevented an increase in the blood sugar level in rats. Modeling the pathology of type 2 DM on the background of an increase in glucose led to a decrease in the antioxidant defense of the organism of rats of the 2nd group, as evidenced by a decrease in catalase activity by 18.6 % in the blood serum of these animals. Installation of implants in rats of the 3rd group caused an even more significant decrease in the activity of the antioxidant system - a decrease in catalase activity by 34.9 %. Preventive measures effectively prevented a decrease in serum catalase activity, which was caused by implant fixation against the background of the development of experimental type 2 DM. The activity of the main enzyme of the body's antioxidant defense in the blood serum of rats significantly increased and corresponded to the values of intact animals. The results indicate the antiglycemic and antioxidant effects of the components of the proposed TPC under conditions of type 2 DM development and experimental implantation. In the blood serum of rats, which were modeled for type 2 DM, an increase in urease activity by 1.7 times was also recorded with a simultaneous decrease in lysozyme activity by 29.5 %. This indicates a decrease in nonspecific antimicrobial protection in the body with the development of type 2 DM and, as a consequence, the development of bacteremia. After fixation of implants in rats of the 3rd group, the studied parameters worsened even more: the urease activity increased 2.3 times, and the lysozyme activity decreased by 48.9 % compared to the values in intact rats. After taking preventive measures, the activity of urease in the blood serum of rats decreased significantly and corresponded to the normal level, and the level of lysozyme activity in these rats significantly increased, but did not reach the norm.

Modeling type 2 DM in animals caused a 2.4 increase in the degree of dysbiosis. Installation of implants in rats led to a more significant increase in the degree of generalized dysbiosis - an increase of 4.5 times compared with the intact group. The introduction of prophylactic drugs and irrigation of the oral cavity in animals with type 2 DM after implantation made it possible to significantly reduce the degree of dysbiosis to almost a normal level. In rats that were modeled with type 2 DM, there was a significant increase in inflammation markers: the content of malondialdehyde (MDH) - by 32.4 % and elastase activity - by 31.6 %. The obtained data indicate the presence of systemic inflammation and activation of lipid peroxidation in rats of this group. The fixation of implants in rats promoted an even greater increase in the level of MDH in the blood serum, which indicates an intensification of lipid peroxidation (LPO) in the body of animals at the same time. The complex of preventive drugs made it possible to reduce the MDH content by 23.1 % and the elastase activity - by 15.2 %, which indicates the antioxidant and anti-inflammatory efficacy of the developed TPC.

Modeling in rats of type 2 DM revealed a decrease in the level of hyaluronic acid in the gums (by 23.0 %), indicating an increase in the permeability of the oral mucosa of the animals, since hyaluronic acid acts as an intercellular "cement". Prophylaxis prior to implantation prevented a decrease in the level of hyaluronic acid in rats and helped to maintain its normal level. The intensification of inflammation during the development of type 2 DM entails an increase in urease activity (by 69.4 %) and a decrease in lysozyme activity (by 23.5 %), which are normalized during treatment and prevention. When modeling DM type 2 in the gums of animals, an increase in the degree of dysbiosis was observed by 2.1 times, which indicates a violation of the microbiocenosis in the oral cavity. Fixation of implants in rats led to an additional increase in the degree of dysbiosis by 1.7 times. Carrying out preventive measures contributed to a significant decrease in the degree of dysbiosis in the oral cavity of animals, despite the fact that this indicator exceeded normal values. Modeling type 2 DM in rats caused a 14.6 % decrease in catalase activity and a 38.9 % increase in MDH levels, resulting in a 38.1 % decrease in the

antioxidant-prooxidant index (API). Implant placement resulted in further increases in MDH levels and a decline in API levels. Carrying out preventive measures in rats with type 2 DM after fixation of implants effectively prevented the disturbance of the “antioxidant-oxidant” balance in the gums of the animals.

In the experiment, the assessment of morphological disorders in the oral cavity of rats was carried out during the modeling of type 2 DM and the installation of implants and the effectiveness of therapeutic and prophylactic measures. In animals in which type 2 DM was modeled, pathological changes were found in comparison with the group of intact rats from the side of the oral mucosa, submucosa and vessels of the microvasculature. With type 2 DM, ischemic and dystrophic processes developed in the parodontal tissues of rats, leading to the development of destructive-inflammatory processes in animals, one of the pathogenesis factors of which is the activation of apoptosis, compensatory activation of angiogenesis, as evidenced by an increase in BAX expression by 1.81 times, VEGF 2.89 times. Fixation of implants in rats on the background of modeling DM aggravated the morphological picture of destructive-inflammatory processes in the oral cavity of animals with continuing vasoconstrictor changes in the microvasculature, with narrowing of arterioles and expansion of venules, which underlie further activation of apoptosis and remodeling of the oral tissue. The obtained results indicate the need to develop therapeutic and prophylactic measures to accompany orthopedic treatment using implants in patients with DM. The proposed scheme of therapeutic and prophylactic measures on the background of DM modeling and implantation led in rats to the normalization of the disturbed vascular picture of the microvasculature, to a decrease in the activity of apoptotic processes, to a decrease in the inflammatory processes of soft and hard tissues of the oral cavity and to a decrease in the activity of resorption processes in hard tissues.

The study of the state of genes associated with bone metabolism, both in orthopedics and in orthodontic treatment of teeth in patients with metabolic disorders, is of scientific and practical interest. We studied polymorphism of genes directly or indirectly associated with bone metabolism in patients with metabolic

disorders, referred for orthopedic treatment. *The PON1 gene* (paraoxonase 1) is a gene that encodes a protein. Diseases associated with PON1 also include microvascular complications. Polymorphisms in this gene have been linked to diabetes and coronary heart disease. In our studies, patients with metabolic abnormalities in the PON1 gene accounted for 96.4 % of cases (57.1 % - heterozygotes, 39.3 % - mutations). *The APOE gene* (apolipoprotein E) is a protein that encodes a gene. Mutations in this gene lead to type III hyperlipoproteinemia, which is characterized by increased levels of cholesterol and triglycerides in blood plasma. In the APOE gene, which is responsible for lipoprotein metabolism and primary bone tissue regeneration, deviations from the norm in our case were 57.1 % (heterozygotes). *The endothelial gene NOS3* (e-NOS) is a protein that regulates bone response to stress. In the NOS gene, in 42.9 % of cases, we noted mutations and heterozygotes. *Vascular endothelial growth factor (VEGF)* plays a key role in the process of angiogenesis, and also increases vascular permeability, stimulates the growth of vascular endothelial cells, and suppresses apoptosis. Allelic VEGF variants associated with microvascular complications in diabetes and atherosclerosis. Disturbances in *VEGF* in our study were 96.5 % (67.9 % - heterozygotes and 28.6 % - mutations). The ability to form bone was assessed using the *TGF* gene, the deviation of which from the norm in our case was noted in 50 % of cases. *TGF* is a multipotent cytokine, is a cell growth modulator, inhibits the proliferation and migration of endothelial cells, the immune system, suppressing the pro-inflammatory cytokine response. The study of the production of the growth factor can be used to assess the dynamics of the course of diseases. Diseases associated with the *Col1A1* gene include osteogenesis imperfecta. In our case, disorders in the genes of bone collagen formation were 32 %. The *VDR* gene encodes the vitamin D₃ receptor. Targets for the vitamin D₃ receptor are primarily involved in mineral metabolism and regulate a number of other metabolic pathways involved in the immune response. In the *VDR* gene, heterozygotes and mutations in our case were 75 %.

The genetic basis for the tendency to longevity of dental implants is formed by complex interactions between collagen genes, enzymes of metalloproteinases and tissue inhibitors, the phenotypic effects of which during osseointegration can be realized in different ways in patients. In our study, molecular genetic testing of type 2 DM patients requiring orthopedic treatment using dental implants identified a "risk" group with a functionally impaired T gene of the -1997G / T polymorphism of the *Coll1A1* gene. Among the molecules involved in bone remodeling, enzymes from the group of matrix metalloproteinases (*MMPs*) play an important role. Genotyping of the patients examined by us showed that the functional alleles of metalloproteinases *MMP1-1607insG* and *MMP9 A-8202G* are 68.2 % and 45.5 %, respectively. The minor allele 2G of *MMP1* is present in 31.8 % of patients. The minor allele G of the *MMP9* gene is represented in 54.5 %. The homozygous 2G / 2G genotype and the G / 2G heterozygotes of the *MMP1* gene account for 18.2 % and 27.3 %. 54.5 % of patients functionally full genotype G / G. The functional AA -820 genotype of the *MMP9* gene was presented only in 18.2 % of the examined patients. Functionally defective genotypes account for 27.3 % for homozygous GG and 54.5 % for heterozygous variant AG of A-8202G polymorphism of the *MMP9* gene. *MMP-9* is involved in inflammation, tissue remodeling, wound healing, mobilization of matrix-linked growth factors, and cytokine processing. Polymorphisms in the *MMP* genes are largely associated with a number of dental and bone pathologies, and their presence in the re-implant fluid can provoke diseases of the re-implant with the subsequent loss of bone mass. We have shown that serum levels of *MMP1* in diabetic patients were significantly higher than in individuals with normal glucose metabolism. The *TIMP-1* gene plays a role in the regulation of the active forms of *MMP-1*, *MMP-3*, and *MMP-9*. We conducted a study of the *TIMP-1* concentration in the gingival crevicular (gap) fluid in patients with type 2 DM. The concentration of *TIMP-1* in patients with DM was similar to that in patients with gingivitis / chronic generalized parodontitis without DM, therefore it was assumed that DM does not significantly affect the concentration of *TIMP-1* in the gingival crevicular fluid. The inflammatory process caused by tissue damage during

implantation stimulates the release of the beta protein TGF. With insufficient expression of TGF- β , the regulation of the production of immunosuppressive cytokines, including IL-4 and IL-10, is impaired. Insulin-like growth factor I (IGF-I) is responsible for further osteoblast differentiation and bone growth. Genotyping of the examined patients showed that the frequency of alleles (2716 G / A, rs6214) of insulin growth factor IGF-1 G and A is the same and amounts to 50 %, which exceeds the population indicators in Europe. The frequency of occurrence of alleles and genotypes of the 3323 G / A polymorphism of the IGF-2 gene was studied in patients with type 2 DM who were referred for dental implantation. It was found that among the examined patients for polymorphism 3323 G / A of the IGF-2 gene, the minor allele A (68.2 %) prevailed. Allele G was detected in 31.8 % of patients. Allele G is presented only in heterozygous form GA in 63.6 %. The frequency of the minor AA genotype is 36.4 %.

Thus, the obtained research results indicate that growth factors have a decisive effect on the speed and quality of reparative processes in DM patients with dental implantation. Preoperative preparation for dental implantation should include laboratory tests aimed at assessing genetic factors affecting osseointegration and the possible durability of dental implants, that is, genetic analysis should be used prophylactically as part of implantation planning. A state with a high risk of developing DM and metabolic syndrome (MS) creates prerequisites for the formation of inflammatory and destructive lesions of the parodontium, which must be taken into account in the orthopedic treatment of such patients.

In patients with type 2 DM, epigenetic mechanisms may be involved in the regulation of genes that are differentially expressed. Violation of the mechanisms of epigenetic regulation is directly or indirectly associated with many diseases, including type 2 DM. We have attempted to use the *LINE1* aberrant methylation assay to assess the progression of MS, type 2 DM with dental implantation. Methylation of long repetitive sequences of the *LINE1* gene was studied in patients seeking dental implantation. Methylation analysis was performed in gingival tissues and in the blood of patients. It was shown that in the gingival tissues *LINE1* DNA

methylation in patients with chronic generalized parodontitis (CGP) and metabolic disorders was significantly lower than in patients with only CGP, and even lower in patients with type 2 DM. Hypomethylation of the MMP13 promoter was associated with the development of CGP and its progression on the background of MS and DM type 2. A decrease in the methylation of the IL-6 gene promoter found in the study leads to an increase in the expression of MMP13 metalloproteinases. As a result of statistical analysis, a positive correlation was found between the content of IL-6 and MMP13 in patients with CGP. Correlation analysis between the content of IL-6 and MMP13 in the oral fluid of patients with CGP showed a high positive relationship ($r = 0.50$) of these cytokines. That is, an association was observed between the hypomethylation of the IL-6 and MMP13 gene promoters with their activation, which leads to tissue destruction in the inflammation focus and an increase in the course of CGP.

The results obtained must be taken into account for predicting possible complications in implantology, as well as when developing therapeutic and prophylactic measures to accompany such treatment.

A clinical and clinical laboratory assessment of the effectiveness of the developed treatment-and-prophylactic complex for accompanying orthopedic treatment using implants of patients with DM was carried out.

Complications after surgery were divided into 3 degrees. Analysis of the results shows that in the main group receiving TPC, 84.70 % of patients were without complications, while in the comparison group - 40.69 %. As a result of the use of the developed TPC to accompany orthopedic treatment, mild and moderate postoperative complications in patients of the main group were 3.3 times and 3.5 times less frequent, respectively, than in the comparison group receiving only basic therapy, and no severe form was observed.

After 3, 6 months and after 1 year, significant differences were noted in the main group and in the group comparing indicators of the state of parodontal tissues and the level of hygiene. The index of the prevalence of the inflammation process PMA %, in the comparison group after 1 year of observation increased by 7.9 %,

while in the main group it increased only by 1.5 %. The bleeding index for 1 year of observation increased in the comparison group by 0.14, and in the main group it decreased by 0.09. The Silness-Loe index for 1 year of observation in the comparison group decreased by 13.6 %, and in the main group it decreased by 42.5 %. The Stallard index in the dynamics of observation in the comparison group of 1 year decreased by 23.3 %, and in the main group - by 49.4 %.

Biochemical studies of the oral fluid in patients with type 2 DM at different stages of orthopedic treatment indicate that in the main group receiving TPC, the elastase activity after 1 year of implantation was 4 times lower than in the comparison group, the MDH content was 1.7 times less, urease activity - 2 times less, catalase activity - 2.6 times higher, API index - 4.7 times higher, lysozyme activity - 2 times higher, and the degree of dysbiosis - 4 3 times less. At the same time, in the patients of the main group, after 1 year of observation, the level of triglycerides, cholesterol and glucose in the oral fluid was significantly lower. The obtained results indicate a high anti-inflammatory and antioxidant efficacy of the proposed TPC in the process of orthopedic treatment of patients with DM, normalization of microbiocenosis in the oral cavity, impaired indicators of metabolic processes.

A spectrophotometric study of the state of parodontal tissues and its microcapillary bed in patients with type 2 DM in the course of complex orthopedic treatment using implants showed a significant decrease due to TPC in the degree of inflammation in patients of the main group and normalization of the response of the microcapillary bed of parodontal tissues to a regulated chewing load.

In addition, in the main group, patients receiving TPC significantly improved fat metabolism indexes (body mass index, fat mass, fat mass index, percentage of fat mass, level of visceral fat).

The densitometric studies of bone quality in patients with type 2 DM during orthopedic treatment indicate that after 1 year of follow-up in patients of the main group who received TPC, broadband attenuation of the ultrasound wave in bone tissues (BUA, dB / MHz), which characterizes the quality of the structure bone tissue

was 1.6 times higher than in patients of the comparison group, and the bone quality index (BQI, cu) was 1.27 times higher.

Key words: orthopedic treatment, implants, diabetes mellitus, experiment, genetic markers, clinical and laboratory results

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА:

1. Рожко П. Д. Клиническая эффективность лечебно-профилактических мероприятий сопровождения ортопедического лечения пациентов с сахарным диабетом / П. Д. Рожко // Colloquium journal. – 2020. – № 29 (81). – С. 28-32.
2. Рожко П. Д. Ортопедическое лечение пациентов с сахарным диабетом / П. Д. Рожко // Colloquium journal. – 2020. – № 27 (79). – С. 43-50.
3. Демьяненко С. А. Состояние пародонта у крыс после имплантологической операции на фоне сахарного диабета 2 типа / С. А. Демьяненко, М. Г. Дробязко, П. Д. Рожко // Российский стоматологический журнал. – 2017. – Т.21. – №6. – С. 313-316. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*
4. Демьяненко С. А. Пародонтопротекторное действие комплекса антибиотических средств при экспериментальной имплантологии на фоне сахарного диабета / С. А. Демьяненко, м. Г. Дробязко, П. Д. Рожко [и др.] // Российский вестник дентальной имплантологии. – 2018. – №3-4. – С. 21-25. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*
5. Деньга А. Э. Минерализационные процессы в костной ткани крыс при экспериментальном моделировании метаболического синдрома и ортодонтического перемещения зубов / А. Э. Деньга, П. Д. Рожко, О. А. Макаренко // Вестник стоматологии. – 2019. – Т.31. – №1. – С. 11-14. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*
6. Деньга А. Э. Влияние витаминно-минерального комплекса «магний активный» на состояние крови и тканей пародонта крыс в условиях моделирования метаболического синдрома / А. Э. Деньга, П. Д. Рожко, С. А. Шнайдер // Вісник морської медицини. – 2019. – №1. – С. 57-64. *Участь*

здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.

7. Деньга А. Э. Оценка нарушений в генетических маркерах, связанных с костным метаболизмом у пациентов с зубочелюстными аномалиями на фоне метаболического синдрома / А. Э. Деньга, Т. Г. Вербицкая, П. Д. Рожко // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2020. – №1 (59). – С. 59-64. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

8. Рожко П. Д. Исследование полиморфизма генов COL1A1-1997G/T, MMP1-1607INSG, MMP9 A-8202G, TIMP1C536T у пациентов с сахарным диабетом 2 типа, направленных на дентальную имплантацию / П. Д. Рожко, О. В. Деньга, Т. Г. Вербицкая // Colloquium journal. – 2020. – №19 (71). – С. 27-30. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

9. Рожко П. Д. Изучение полиморфизма генов трансформирующего фактора роста TGF- β 1 T869C и инсулиновых факторов роста IGF-1 1245G/A, IGF-2 3323 G/A у пациентов с сахарным диабетом 2 типа при дентальной имплантации / П. Д. Рожко, О. В. Деньга, Т. Г. Вербицкая, С. А. Шнайдер // Colloquium journal. – 2020. – №30 (82). – С. 63-67. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

10. Рожко П. Д. Метилирование промоторов генов IL-6 и MMP13 у пациентов с метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2 типа при хроническом пародонтите / П. Д. Рожко, О. В. Деньга, Т. Г. Вербицкая, С. А. Шнайдер // Інновації в стоматології. – 2019. – №2. – С. 59-66. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

11. Рожко П. Д. Биохимические показатели сыворотки крови крыс при моделировании сахарного диабета 2 типа, установке имплантатов и проведении лечебно-профилактических мероприятий / П. Д. Рожко, О. В. Деньга, О.А. Макаренко // Colloquium journal. – 2020. – №22 (74). – С. 54-58.

Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.

12. Рожко П. Д. Влияние моделирования сахарного диабета 2 типа и фиксации имплантатов на биохимические показатели тканей пародонта крыс / П. Д. Рожко, О. В. Деньга, О.А. Макаренко, С. А. Шнайдер // Вісник стоматології. – 2020. – №2. – С. 22-26. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

13. Рожко П. Д. Биохимические показатели воспаления и антиоксидантной защиты в ротовой жидкости пациентов с сахарным диабетом 2 типа в процессе комплексного ортопедического лечения / П. Д. Рожко, О. В. Деньга, О.А. Макаренко // Colloquium journal. – 2020. – №24 (76). – С. 26-30. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

14. Рожко П. Д. Состояние микробиоценоза в полости рта пациентов с сахарным диабетом 2 типа при комплексном ортопедическом лечении / П. Д. Рожко, О. В. Деньга, О.А. Макаренко // Norwegian Journal of development of the International Science. – 2020. – Vol. 1. – № 46. – P. 31-34. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

15. Рожко П. Д. Метаболические процессы в организме у пациентов с сахарным диабетом в процессе ортопедического лечения // П. Д. Рожко, О. В. Деньга, С. А. Шнайдер, О. А. Макаренко // EESJ. – 2020. – № 8 (60). – С. 18-21. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

16. Рожко П. Д. Биофизические показатели тканей пародонта у пациентов с сахарным диабетом в процессе комплексного ортопедического лечения / П. Д. Рожко, Э. М. Деньга // Вісник стоматології. – 2020. – № 3. – С. 60-64. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

17. Рожко П. Д. Патологические изменения в слизистой оболочке и сосудах микроциркуляторного русла полости рта крыс при моделировании сахарного диабета / П. Д. Рожко, В. В. Гаргин // Journal of Education, Health and Sport. – 2020. – № 10 (7). – С. 438-444. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

18. Рожко П. Д. Морфологические изменения в полости рта крыс при моделировании сахарного диабета и установки имплантатов / П. Д. Рожко, В. В. Гаргин // Colloquium journal. – 2020. – №31(83). – С. 71-76. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

19. Рожко П. Д. Эффективность лечебно-профилактических мероприятий при моделировании у крыс сахарного диабета и установки имплантатов / П. Д. Рожко, В. В. Гаргин // Colloquium journal. – 2020. – № 28 (80). – С. 33-37. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

20. Рожко П. Д. Показатели качества кости и жировой массы тела у пациентов с сахарным диабетом 2 типа в процессе ортопедического лечения / П. Д. Рожко, Э. М. Деньга // Norwegian Journal of development of the International Science. – 2020. - № 49 (1). – С. 18-22. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

21. Рожко П. Д. Антиоксидантная и антимикробная активность ротовой жидкости пациентов с сахарным диабетом в процессе комплексного ортопедического лечения / П. Д. Рожко // Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя : міжнародна наук.-практ. конференція., Київ, 2-3 жовтня 2020 р. : тези допов. – Київ, 2020. – 63-66.

22. Рожко П. Д. Влияние лечебно-профилактических мероприятий на показатели микробиоценоза полости рта у пациентов с сахарным диабетом 2 типа в процессе ортопедического лечения / П. Д. Рожко // Вітчизняна та світова

медицина: вимоги сьогодення : міжнародна наук.-практ. конференція., Дніпро, 9-10 жовтня 2020 р. : тези допов. – Київ, 2020. – 48-51.

23. Рожко П. Д. Состояние тканей пародонта у пациентов с сахарным диабетом при комплексном ортопедическом лечении / П. Д. Рожко // Медичні та фармацевтичні науки: історія, сучасний стан та перспективи досліджень : міжнародна наук.-практ. конференція., Одеса, 16-17 жовтня 2020 р. : тези допов. – Одеса, 2020. – 54-59.

24. Рожко П. Д. генетическая предрасположенность к стабильности зубных имплантатов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа / П. Д. Рожко // Актуальні питання сучасної медицини: наукові дискусії : міжнародна наук.-практ. конференція., Львів, 23-24 жовтня 2020 р. : тези допов. – Львів, 2020. – 36-40.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	30
ВСТУП	32
РОЗДІЛ 1 ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ І ПАТОЛОГІЧНІ ПОРУШЕННЯ В ОРГАНІЗМІ ПРИ ОРТОПЕДИЧНОМУ ЛІКУВАННІ (огляд літератури).....	40
1.1 Метаболічні порушення в порожнині рота при дентальній імплантації на фоні цукрового діабету	40
1.2 Роль генетичних факторів в процесах остеогенезу при дентальній імплантації у пацієнтів із цукровим діабетом.....	53
1.3 Профілактика ускладнень при ортопедичному лікуванні у пацієнтів з цукровим діабетом і пародонтитом.....	72
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	88
2.1 Обґрунтування мети дослідження.....	88
2.2 Дизайн клінічних та експериментальних досліджень.....	88
2.3 Методи дослідження.....	97
2.3.1 Клінічні та клініко-лабораторні методи дослідження	97
2.3.2 Експериментальні методи дослідження	98
2.3.4 Морфологічні методи дослідження.....	98
2.3.5 Біохімічні методи дослідження	99
2.3.6 Молекулярно-генетичні та епігенетичні методи дослідження	111
2.3.7 Біофізичні методи дослідження.....	115
2.3.8 Статистична обробка даних	118
РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ НА ТВАРИНАХ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ СУПРОВОДУ ОРТОПЕДИЧНОГО ЛІКУВАННЯ ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ ПРИ ДЕНТАЛЬНІЙ ІМПЛАНТАЦІЇ	119

3.1 Біохімічні показники сироватки крові щурів при моделюванні цукрового діабету 2 типу, встановлення імплантатів та проведення лікувально-профілактичних заходів.....	119
3.2 Вплив моделювання цукрового діабету 2 типу та фіксації імплантатів на біохімічні показники тканин пародонта щурів	124
3.3 Пародонтопротекторна дія комплексу антидисбіотичних засобів при експериментальній імплантології на фоні цукрового діабету.....	130
3.4 Процеси ремоделювання кісткової тканини у щурів при ортопедичному та ортодонтичному втручанні на фоні метаболічних порушень	133
РОЗДІЛ 4 МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА СТАНУ ТКАНИН РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ЩУРІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ОРТОПЕДИЧНОГО ПЕРЕМІЩЕННЯ ЗУБІВ НА ФОНІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ	147
4.1 Патологічні зміни в слизовій оболонці і судинах мікроциркуляторного русла порожнини рота щурів при моделюванні цукрового діабету	147
4.2 Морфологічні зміни в порожнині рота щурів при моделюванні цукрового діабету і установки імплантатів	160
4.3 Ефективність лікувально-профілактичних заходів при моделюванні у щурів цукрового діабету і установки імплантатів.....	167
РОЗДІЛ 5 ОЦІНКА СТАНУ ГЕНІВ, ПОВ'ЯЗАНИХ ІЗ ОСТЕОГЕНЕЗОМ, ПРИ ОРТОПЕДИЧНОМУ ЛІКУВАННІ ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ	174
5.1 Порушення в генетичних маркерах, пов'язаних з кістковим метаболізмом, у пацієнтів з зубощелепними аномаліями на фоні метаболічних порушень.....	174
5.2 Дослідження поліморфізму генів кісткового метаболізму у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, спрямованих на дентальну імплантацію	182
5.3 Метилування генів у пацієнтів при цукровому діабеті.....	194

РОЗДІЛ 6 КЛІНІЧНА ТА КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ КОМПЛЕКСНОГО ОРТОПЕДИЧНОГО ЛІКУВАННЯ ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ	210
6.1 Клінічна ефективність лікувально-профілактичних заходів супроводу ортопедичного лікування пацієнтів з цукровим діабетом	210
6.2 Біохімічні показники запалення і антиоксидантного захисту в ротовій рідині пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу в процесі комплексного ортопедичного лікування	222
6.3 Біофізичні показники тканин пародонта, якості кістки і жирової маси у пацієнтів з цукровим діабетом в процесі комплексного ортопедичного лікування	241
РОЗДІЛ 7 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.	256
ВИСНОВКИ.....	290
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	297
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	Error! Bookmark not defined.
ДОДАТОК А.....	339

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЛТ	– аланінтрансаміназа
АДЗ	– антидисбіотичні засоби
АПІ	– антиоксидантно-прооксидантний індекс
АсАТ	– аспартатамінотрансфераза
ГАГ	– глікозаміноглікани
ГПО	– глутатіон-пероксидаза
ЖН	– жувальне навантаження
ЗЩА	– зубощелепні аномалії
ДКІ	– демінералізовані кісткові алоімплантати
ІХС	– ішемічна хвороба серця
КПВ	– карієс-пломба-видалення
КФ	– кисла фосфатаза
ЛПВЩ	– ліпопротеїди високої щільності
ЛПК	– лікувально-профілактичний комплекс
ЛФ	– лужна фосфатаза
МДА	– малоновий діальдегід
МІ	– мінералізуючий індекс
МС	– метаболічний синдром
МЩКТ	– мінеральна щільність кісткових тканин
ПЛР	– полімеразна ланцюгова реакція
ПОЛ	– перекисне окислення ліпідів
СОПР	– слизова оболонка порожнини рота
СД	– ступінь дисбіозу
ХГП	– хронічний генералізований пародонтит
Ш-П індекс	– Шиллера-Писарева індекс
ЦД	– цукровий діабет
ВUA	– широкополосне загасання ультразвуку

BQI	– індекс якості кістки
PMA % (Parma)	– розповсюдженість позитивного папілярно-маргінально-альвеолярного індексу
SOS	– швидкість поширення ультразвуку

ВСТУП

Актуальність роботи

Цукровий діабет (ЦД) негативно впливає на більшість процесів в організмі людини, в тому числі, і в порожнині рота. При ЦД в організмі мають місце порушення жирового і вуглеводного обміну, кісткового метаболізму, судинні порушення, що призводять до запально-дистрофічних процесів, в тому числі і в порожнині рота, та істотно можуть впливати на процес ортопедичного лікування пацієнтів з використанням імплантатів [6, 8, 11, 18, 45, 61, 83, 164, 201, 260, 357]. Цукровий діабет знаходиться у перших рядах серед факторів ризику і відносних протипоказань до оперативних втручань, в тому числі до дентальної імплантації [93]. В цьому і в інших складних випадках при наявності метаболічних порушень для запобігання ускладнень лікування стоматологічних захворювань необхідно проводити в супроводі спеціальних лікувально-профілактичних заходів [15, 56, 77, 86, 92, 97, 108, 137].

Для патогенетичного обґрунтування вмісту таких лікувально-профілактичних заходів необхідно було попереднє проведення експериментальних досліджень на тваринах при моделюванні ЦД і встановленні імплантатів, проведення генетичних і епігенетичних досліджень за участю пацієнтів з ЦД, біохімічних і біофізичних досліджень у них стану тканин пародонта, ротової рідини і оцінки клінічних результатів.

«Виживання» дентального імплантату в першу чергу залежить від його успішної остеоінтеграції. Потім першорядного значення набуває процес адекватного ремоделювання кістки. Саме ці процеси забезпечують довготривалу стабільність імплантату. Ремоделювання являє собою тонку рівновагу між формуванням і деградацією тканин, що контролюється активністю протеолітичних ферментів. Аналіз впливу цукрового діабету на остеоінтеграцію імплантату виявив при цьому зміну процесів ремоделювання

кістки і недостатню її мінералізацію, що призводить до уповільнення процесу остеоінтеграції [58].

Крім того, для досягнення позитивного клінічного результату і розробки цільової терапії у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу важливо розуміти молекулярні механізми, які призводять до відторгнення зубного імплантату. Генетичну основу схильності до довговічності зубних імплантатів складають складні взаємодії між генами колагену, ферментами металопротеїназ і тканинними інгібіторами, фенотипічні ефекти яких в процесі остеоінтеграції можуть реалізуватися у пацієнтів по-різному. Метаболічні порушення при ЦД, які спостерігаються в організмі, перешкоджають нормальному ремоделюванню кісткової тканини, довготривалій остеоінтеграції і стабільності імплантату при ортопедичному лікуванні [13, 112, 308].

Враховуючи вищенаведене, для досягнення позитивного результату необхідно було провести експериментальні, генетичні, епігенетичні, клінічні та клініко-лабораторні дослідження з метою розробки патогенетично обґрунтованої лікувально-профілактичної терапії супроводу ортопедичного лікування з використанням імплантатів на фоні ЦД 2 типу та оцінки її ефективності.

Зв'язок з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана відповідно до плану НДР ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України» «Корекція патогенетичних механізмів порушень метаболізму в організмі та тканинах ротової порожнини у пацієнтів в залежності від екологічних та аліментарних факторів, що впливають на вуглеводний та ліпідний обмін» (Шифр НАМН 104.19, ДР № 0118U006965). Здобувач є співвиконавцем окремих фрагментів зазначеної теми.

Мета та завдання дослідження. Метою роботи було патогенетичне обґрунтування концепція супроводу дентальної імплантації та подальшого ортопедичного лікування пацієнтів з цукровим діабетом за рахунок оптимізації діагностики, експериментального, молекулярно-генетичного та

епігенетичного уточнення пускового механізму каскаду порушень та розробки обґрунтованого комплексу лікувально-профілактичних заходів

1. Розробити схему профілактики ускладнень дентальної імплантації на тлі цукрового діабету та оцінити її ефективність в експерименті на щурах.

2. Провести оцінку біохімічних показників крові, тканин пародонта і кісткових тканин щурів при дентальній імплантації на тлі цукрового діабету та проведення лікувально-профілактичних заходів.

3. Провести на щурах оцінку пародонтопротекторної дії комплексу антидисбіотичних засобів при експериментальній імплантології на фоні цукрового діабету.

4. Провести оцінку стану кісткового метаболізму при моделюванні у щурів метаболічних порушень при дентальній імплантації на фоні лікувально-профілактичних заходів.

5. Провести на щурах морфологічні дослідження порушень кісткового метаболізму і впливу на них лікувально-профілактичного комплексу при моделюванні цукрового діабету та дентальної імплантації.

6. Оцінити порушення в генетичних маркерах, пов'язаних з кістковим метаболізмом, у пацієнтів з метаболічними порушеннями, направлених на ортопедичне лікування.

7. Провести аберантне метилювання ДНК генів у пацієнтів, направлених на ортопедичне лікування із використанням імплантатів, для оцінки прогресії метаболічних порушень.

8. Оцінити стоматологічний статус пацієнтів з цукровим діабетом в процесі комплексного ортопедичного лікування на дентальних імплантатах.

9. Вивчити біохімічні показники ротової рідини пацієнтів з цукровим діабетом на різних етапах комплексного ортопедичного лікування.

10. Провести оцінку біофізичних показників стану тканин пародонта, його мірокапілярного русла, жирової маси тіла та кісткового метаболізму пацієнтів з цукровим діабетом в процесі комплексного ортопедичного лікування.

Об'єкт дослідження – ускладнення дентальної імплантації у дорослих пацієнтів з цукровим діабетом.

Предмет дослідження – патогенетичне обґрунтування та оцінка ефективності супроводу дентальної імплантації та подальшого ортопедичного лікування у дорослих пацієнтів з цукровим діабетом.

Методи дослідження: експериментальні на тваринах (біохімічні, морфологічні) – для вивчення механізмів дії розробленого лікувально-профілактичного комплексу супроводу ортопедичного лікування на моделі цукрового діабету; генетичні та епігенетичні – для вивчення механізмів порушень кісткового метаболізму при цукровому діабеті; клінічні та клініко-лабораторні – для кількісної оцінки безпосередніх та віддалених результатів дії запропонованих лікувально-профілактичних заходів супроводу ортопедичного лікування пацієнтів з ЦД 2 типу; статистичні – для обробки отриманих результатів.

Наукова новизна отриманих результатів.

Вперше на основі багатопланових експериментальних та клініко-лабораторних досліджень обґрунтована концепція супроводу ортопедичного лікування на дентальних імплантатах у дорослих пацієнтів з цукровим діабетом.

В експерименті на щурах вперше показано вплив дентальної імплантації на тлі цукрового діабету на показники крові (вміст глюкози – $7,70 \pm 0,51$ ммоль/л, активність каталази – $0,28 \pm 0,01$ мкат/л, активність уреаз – $4,8 \pm 0,3$ нкат/л, лізоциму – $42,8 \pm 4,1$ од/л, ступінь дисбіозу (СД) – $4,47 \pm 0,27$, вміст МДА – $1,21 \pm 0,05$ ммоль/л, активність еластази – $129,1 \pm 7,9$ мк-кат/л) та позитивна дія розроблених лікувально-профілактичних заходів.

Вперше показано в експерименті на щурах вплив на показники тканин пародонту дентальної імплантації при цукровому діабеті (активність еластази – $40,9 \pm 0,5$ мк-кат/л, вміст гіалуронової кислоти – 526 ± 38 мг/кг, активність уреаз – $1,17 \pm 0,14$ мк-кат/кг, лізоциму – 83 ± 5 од/кг, ступінь дисбіозу – $3,79 \pm 0,27$, активність каталази – $7,2 \pm 0,4$ мкат/кг, рівень МДА – $16,0 \pm 0,8$

ммоль/кг, індекс АПІ – $4,5 \pm 0,6$) та позитивна дія розроблених лікувально-профілактичних заходів.

Проведена морфофункціональна оцінка патологічних змін в слизовій оболонці і судинах мікроциркуляторного русла порожнини рота щурів при моделюванні цукрового діабету та установки імплантатів вперше показала, що моделювання ЦД 2 типу веде до розвитку у тварин деструктивно-запальних процесів, активації апоптозу, компенсаторної активації антиогенезу (зростання експресії ВАХ в 1,81 рази, VEGF – в 2,89 рази).

Показано, що фіксація імплантатів у щурів при цукровому діабеті 2 типу погіршує морфологічну картину деструктивно-запальних процесів в ротовій порожнині тварин. Вперше запропонована схема лікувально-профілактичних заходів при моделюванні цукрового діабету 2 типу призводила до зниження активності апоптотичних процесів, зменшення запальних процесів м'яких і твердих тканин ротової порожнини і до зниження активності резорбційних процесів твердих тканин.

Вперше проведена оцінка порушень генетичних маркерів, пов'язаних з кістковим метаболізмом, у пацієнтів з цукровим діабетом, направлених на дентальну імплантацію, показала необхідність оцінки маркерів остеогенезу Col1A1 и VDR, ендотеліального фактору VEGF, фактору антиоксидантного захисту PON, маркерів метаболізму ліпопротеїнів APOE, проліферації остеобластів TGF і маркеру реакції кісткових тканин на навантаження NOS при розробці лікувально-профілактичних заходів супроводу ортопедичного лікування.

Молекулярно-генетичне тестування поліморфізму генів трансформуючого фактора росту TGF T869C і інсулінових факторів зростання IGF1 2716G / A, IGF2 3323 G / A у пацієнтів з ЦД 2 типу, які потребують ортопедичного лікування з використанням дентальних імплантатів, вперше виявило, що у 31,8% пацієнтів можливе зниження мінеральної щільності кістки і діабетичних мікросудинних ускладнень, що потребує проведення лікувально-профілактичних заходів, які впливають на їх остеоінтеграцію.

Розроблені лікувально-профілактичні заходи супроводу ортопедичного лікування з використанням дентальних імплантатів у пацієнтів з цукровим діабетом дозволили знизити щодо групи порівняння більш ніж в 3 рази відсоток ускладнень легкої і середньої тяжкості і збільшити більш ніж в 2 рази відсоток пацієнтів без ускладнень.

Лікувально-профілактичний комплекс дозволив в основній групі пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу при ортопедичному лікуванні нормалізувати мікробіоценоз в порожнині рота, знизити в ротовій рідині активність еластази в 3,5 рази, вміст МДА в 1,5 рази, тригліцеридів в 2,3 рази, холестерину в 1,4 рази та глюкози в 2,4 рази, і підвищити індекс АПІ в 4,7 рази, активність каталази – в 3 рази та лізоциму – в 2 рази.

Розроблений лікувально-профілактичний комплекс дозволив у пацієнтів основної групи з цукровим діабетом 2 типу при ортопедичному лікуванні нормалізувати функціональний стан мікрокапілярного русла ясен і знизити запальні процеси в них, знизити показники жирової маси, помітно поліпшити структуру кістки (BUA – 47,8дБ/МГц) і, отже, її якість (BQI – 83,6 ум.од.), що корелювало і з поліпшенням їх стоматологічного статусу..

Практичне значення отриманих результатів. Запропонована патогенетично обґрунтована схема супроводження ортопедичного лікування з використанням дентальних імплантатів у дорослих пацієнтів з цукровим діабетом дозволяє істотно підвищити ефективність лікування та знизити рівень ускладнень в порожнині рота при цьому.

Результати проведених експериментальних, морфофункціональних досліджень на тваринах, генетичних, біохімічних, біофізичних та клінічних досліджень в клініці у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу показали, що вони можуть бути використані в якості інформативних біомаркерів для покращення діагностики та підвищення ефективності ортопедичного лікування за допомогою дентальних імплантатів, а також для прогнозу ускладнень на період після лікування.

Результати дослідження впроваджені в клінічну практику стоматологічного відділення №2 багатoproфільного медичного центру ОНМедУ, стоматологічного факультету ТзОВ «Львівський медичний інститут», відділу ортопедії ДУ «ІСЦЛХ НАМН», (Одеса), КНП «Одеська обласна клінічна стоматологічна поліклініка» ООР, приватної клініки «Овасак» (Одеса).

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійним науковим дослідженням. Автором самостійно визначено напрямки роботи, сформульовано мету та завдання досліджень, проведено інформаційно-патентний пошук, відібрана і проаналізована наукова література за темою дисертації, самостійно проведені всі клінічні дослідження, а також ортопедичне лікування, узагальнені та проаналізовані отримані результати, проведена їх статистична обробка, написана та оформлена дисертація, сформульовані основні висновки і положення наукової новизни.

Експериментальні, молекулярно-генетичні та епігенетичні, морфологічні, біохімічні та біофізичні дослідження виконані автором спільно зі співробітниками лабораторії біохімії, сектору експериментальної патології, сектору біофізики та функціональної діагностики ДУ «ІСЦЛХ НАМН України» (м. Одеса), лабораторії морфології Харківського національного медичного університету, лабораторії «Гермедтех» (м. Одеса), лабораторії молекулярної патології університету Erlangen-Nuremberg, (Німеччина).

Апробація результатів дисертації. Основні положення і результати дисертаційної роботи представлені на міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя» (Київ, 2020), міжнародній науково-практичній конференції «Вітчизняна та світова медицина: вимоги сьогодення» (Київ, 2020), міжнародній науково-практичній конференції «Медичні та фармацевтичні науки: історія, сучасний стан та перспективи досліджень» (Одеса, 2020), міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини: наукові дискусії» (Львів, 2020).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 24 наукових роботи, з них 20 статей (10 статей – у наукових фахових виданнях України, 10 статей – у наукових виданнях інших країн), 4 тези в матеріалах конференцій.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 343 сторінках друкованого тексту, містить 49 таблиць, 31 рисунок і складається із анотацій, списку публікацій здобувача, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, розділу аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури (380 джерел, із них 208 – латиницею) та додатку..

РОЗДІЛ 1 ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ І ПАТОЛОГІЧНІ ПОРУШЕННЯ В ОРГАНІЗМІ ПРИ ОРТОПЕДИЧНОМУ ЛІКУВАННІ (огляд літератури)

1.1 Метаболічні порушення в порожнині рота при дентальній імплантації на фоні цукрового діабету

Протягом останніх років, незважаючи на стрімкий розвиток сучасних технологій профілактики та лікування стоматологічної патології, спостерігається збільшення кількості осіб, які потребують ортопедичного лікування. Згідно з офіційними даними Міністерства охорони здоров'я України, потреба населення України в зубному протезуванні складає 46-52% [48]. Слід зауважити, що за останній час спостерігається тенденція до зростання дефектів зубних рядів серед осіб молодого і середнього віку. Протезування з опорою на внутрішньокісткові дентальні імплантати набуває все більшого поширення, оскільки дозволяє досягти високоестетичних і функціональних результатів лікування. Однак, незважаючи на накопичений науковий і клінічний досвід в цій області, до цих пір зустрічаються випадки відторгнення імплантатів, особливо при наявності у пацієнтів різної соматичної патології [60]. Хоча багато досліджень внесли важливий внесок в розуміння процесу імплантології, в деяких ситуаціях одні тільки клінічні фактори не пояснюють, чому деякі з них призводять до втрати імплантату [165, 205].

Основними факторами відторгнення імплантатів є оклюзійне перевантаження, цукровий діабет, захворювання тканин пародонту, похилий вік [194, 293].

Пацієнтам з хронічним пародонтитом проводилося пародонтологічне лікування, після якого встановлювали імплантати. При цьому показано потенційний вплив пародонтиту та схильності до нього на успіх імплантації [45].

Аналіз структурно-функціонального стану кісткової тканини у пацієнтів з цукровим діабетом, які потребували дентальної імплантації, показав, що тільки у 32% денситометричні параметри (індекс щільності кісткової тканини, швидкість поширення і широкосмугове ослаблення ультразвуку) відповідали віковій нормі. У 68% спостерігалися порушення структурно-функціональних особливостей кісткової тканини у вигляді остеопенії різного ступеня вираженості у 79,41% і остеопорозу у 20,59%, а також зміна рівня кальцій-регулюючих гормонів (зниження кальцитоніну, кальцитріолу, остеокальцину і зростання паратиреоїдного гормону), що може погіршувати приживання зубних імплантатів [39]. Для поліпшення клінічного результату або розробки цільової терапії важливо розуміти молекулярні механізми, які призводять до відторгнення зубного імплантату.

За визначенням, прийнятим на Міжнародній конференції в Копенгагені у 1993 р., остеопороз – це системне захворювання скелета, що характеризується зниженням кісткової маси і порушенням мікроархітекtonіки кісткової тканини, що призводить до збільшення крихкості кістки і ризику переломів. Це дуже поширене захворювання, особливо у віковій групі старше 50 років, представники якої є основними кандидатами на протезування з опорою на імплантати [345]. В основі розвитку остеопорозу лежить порушення внутрішньокісткових механізмів – моделювання і ремоделювання, тісно пов'язаних з гістогенезом клітин і кальційрегулюючою гормональною системою. Кісткова тканина щелеп за будовою та хімічним складом мало відрізняється від інших кісток скелета. Однак в альвеолярній кістці процеси внутрішньої перебудови протікають більш активно, ніж в інших кістках скелета. У нормі висота альвеолярного гребеня підтримується фізіологічною рівновагою між формуванням і резорбцією кістки, які регулюються не тільки системними, а й місцевими факторами [240].

В роботі [178] проаналізовано взаємний вплив остеопорозу і пародонтиту, що необхідно враховувати при дентальній імплантації. У різних роботах зазначено, що при остеопорозі відбувається втрата кісткової маси не

тільки опорного скелета, але і швидко знижується щільність щелепних кісток. Встановлено, що хворі з остеопорозом мають більш низьке довгострокове приживання дентальних імплантатів ніж у людей без порушення кісткової будови.

В огляді [83] детально розглянуті сучасні методи оцінки щільності кісткової тканини, зміни в порожнині рота при остеопорозі, в. т.ч. в умовах дефіциту естрогену, а також впливу замісної гормональної терапії, препаратів кальцію і вітаміну D на стан ротової порожнини. Ці дослідження особливо важливі, тому що багатьом пацієнткам в період постменопаузи доводиться відмовляти в імплантації за рахунок високого ризику негативних результатів унаслідок системного остеопорозу.

Також в центрі уваги стоматологів, особливо в останні роки, знаходиться наявність супутньої соматичної патології у хворих, які потребують дентальної імплантації. До числа найбільш значущих соматичних захворювань в цьому випадку відноситься цукровий діабет і супутня йому патологія пародонта [40, 93].

У зв'язку з провідною роллю макро- і мікроелементів в процесах пато- і саногенезу є принциповим вивчення їх вмісту при реабілітації хворих в постімплантаційному періоді. Мікроелементний гомеостаз – це окрема форма загальної гомеостатичної системи організму, порушення якої відображаються на здатності організму до адаптації в екстремальних умовах. Однак до теперішнього часу немає чіткого уявлення про співвідношення основних остеотропних макро- і мікроелементів при ендоосальній імплантації. У метааналізі М. Jeffcoat проаналізував ряд публікацій для визначення зв'язку між втратою кісткової маси щелеп і остеопорозом. У багатьох дослідженнях дійсно визначалася позитивна кореляція між системною втратою кісткової маси і втратою кісткової маси щелеп [252]. На думку автора, інтерпретація даних літератури ускладнюється різноманітністю методів, використаних для оцінки остеопенії, маси альвеолярної кістки і ступеня пародонтиту.

На фоні широкого впровадження дентальної імплантації в стоматологічну практику збільшується кількість ускладнень на різних етапах стоматологічної реабілітації пацієнтів із застосуванням дентальних імплантатів, особливо при наявності соматичної патології.

У клінічній практиці використовується кілька можливостей опосередкованої оцінки ступеня остеоінтеграції і стабільності імплантатів:

- клінічний (перкусія, мануальний контроль стійкості імплантату);
- періотестометрія;
- торк-тест за допомогою динамометричного ключа;
- частотний або магнітно-резонансний аналіз;
- рентгенологічні методи дослідження (включаючи денситометрію).

Успіх імплантації багато в чому визначається якістю попередньої підготовки. Пацієнти, яким планується імплантація, повинні бути фізично і психологічно здатні перенести її. Необхідно отримати дані для побудови плану лікування (огляд порожнини рота, вивчення пробних протезів, розробка плану та узгодження його з хірургом) і отримати письмову згоду пацієнта. Потрібно інформувати пацієнта про можливі ускладнення і протипоказання. Особливу увагу необхідно приділяти пацієнтам з різними соматичними захворюваннями, в тому числі, із цукровим діабетом [141].

Загоєння, що порушується при ЦД, кортикальної кісткової тканини зазвичай відбувається за рахунок модернізації кісткових клітин, в той час як загоєння губчастої кістки найчастіше відбувається за рахунок явища остеокондуктивних, тобто мобілізації та міграції остеобластів в сторону імплантата, що в результаті призводить до контактного остеогенезу. Остеокондуктивність – це здатність матеріалу до адгезії і зв'язування остеогенних клітин, забезпечення біологічних потоків, неоваскуляризації, і підтримці процесів проліферації і диференціювання клітин з навколишньої живої тканини, з утворенням безпосереднього зв'язку з кістковою тканиною або поступово новоутворюючою тканиною, що заміщається, тоді як остеоіндуктивність – це здатність матеріалу індукувати диференціювання

клітин в остеотворюючі (хондроцити, остеобласти) з навколишніх некісткових тканин на його поверхні. Мобілізація та міграція остеогенних клітин на поверхню імплантата, через що утворюється навколо нього кров'яний згусток, вимагає певного часу. Активність тромбоцитів і лейкоцитів в цьому згустку залежить від мікроструктури поверхні імплантату, що має вирішальне значення в утриманні фібринових волокон, за якими мігрують остеогенні клітини. Таким чином виявляється, що трабекулярна кістка набагато краще пристосована до швидкого загоєння, ніж кортикальна кістка [101].

Для отримання оптимальних умов функціонування дентальних імплантатів необхідно враховувати умови адекватної поставки кисню, також порушеної при ЦД, до ділянки новоутвореного кісткового регенерату щелепи. В роботах [18, 20] вперше проведена порівняльна оцінка напруги кисню в тканинах нижньої щелепи у хворих з дефектами зубів на різних етапах імплантації в процесі репаративного остеогенезу, а також на основі отриманих даних встановлено оптимальні терміни навантаження на імплантати і терміни проведення операцій в порожнині рота.

Визначаючи клітинні і молекулярні параметри розширеного імунного статусу пацієнтів перед проведенням оперативних втручань, пов'язаних з репаративним остеогенезом, можна судити про наявність і вираженість інфекційно-запального процесу місцево в кістковій тканині і в цілому в організмі. Це має важливе значення для прогнозування негайних і відстрочених в часі ускладнень [62].

Використання зубних імплантатів у пацієнтів з цукровим діабетом залишається спірним, тому що є дані про загоєння кістки навколо імплантатів. Однак, в роботі [357] показано, що за перший рік після імплантації 23 імплантатів 10 пацієнтам з добре або помірно контрольованим цукровим діабетом 2 типу жоден імплантат не був загублений, не спостерігалось кровоточивості при зондуванні або патологічної глибини зондування, що

показує, що для даних пацієнтів в якості стоматологічного методу лікування можна використовувати зубні імплантати.

Розвиток дентальної імплантації відкриває ряд нових можливостей в ортопедичній стоматології та щелепно-лицевій хірургії. Втрата зубів є серйозною шкодою здоров'ю людини. При втраті зубів, крім очевидного фізичного ослаблення зубощелепної і травної систем, виникають і соціально-моральні проблеми, наприклад, косметичний і мовний дефекти [191]. На сьогоднішній день не викликає сумніву, що імплантація є перспективним методом лікування в комплексній реабілітації пацієнтів з частковою і повною відсутністю зубів у всіх вікових групах. Встановлення внутрішньокісткових імплантатів допомагає оптимально вирішити проблему відновлення порушених функцій зубощелепної системи, однак цей процес істотно залежить від таких системних захворювань як ЦД і вимагає в цьому випадку проведення лікувально-профілактичних заходів супроводу такого ортопедичного лікування.

Хоча багато досліджень внесли важливий внесок в розуміння процесу імплантології, в деяких ситуаціях одні тільки клінічні фактори не пояснюють, чому деякі з них призводять до втрати імплантату [165, 205].

Мета, яка повинна бути досягнута за допомогою сучасних досліджень в області імплантології, полягає в розробці інструментів, здатних передбачити біологічну відповідь пацієнта на лікування до втручання імплантату.

Для поліпшення клінічного результату або розробки цільової терапії важливо розуміти молекулярні механізми, які призводять до відторгнення зубного імплантату.

У своїй першій Глобальній доповіді на тему діабету ВООЗ підкреслює величезні масштаби проблеми цукрового діабету. Сьогодні 422 мільйони людей в усьому світі страждають від діабету. У 2016 році 1,6 млн смертельних випадків сталося через діабет. До 2030 року цукровий діабет стане 7-ю причиною смерті в усьому світі.

ЦД стрімко збільшується серед старіючого населення індустріально розвинених країн. У 2000 р. число хворих на ЦД в світі становило 171 мільйон чоловік (2,8%), у 2013 р. – 382 млн., до 2035 р. експерти Всесвітньої Діабетичної Федерації (IDF) прогнозують подальше збільшення кількості хворих на 55% – до 592 мільйонів чоловік [50]. Ситуація в Україні вписується в загальносвітові тенденції. Щорічно в нашій країні реєструється більше 100 тис. нових випадків цукрового діабету. За даними Міністерства охорони здоров'я в Україні налічується близько 1,3 мільйона хворих на цукровий діабет. Близько 50% випадків захворювання не діагностовано [148]. Негенетичними факторами ризику виникнення ЦД є похилий вік, ожиріння, переїдання, малорухливий спосіб життя, внутрішньоутробна затримка розвитку, голодування у грудних дітей і дітей молодшого віку, стрес, що супроводжується викидом контрінсулярних гормонів [2].

У хворих на цукровий діабет пародонтит зустрічається практично в 100% випадків і характеризується агресивним характером перебігу. У патогенезі пародонтального синдрому при цукровому діабеті основне значення надається ангіопатії тканин пародонта: просвіт судинного русла не зникає, але уражається судинна стінка. Патоморфологічні зміни судин зводяться до первинного плазматичного пошкодження базальної мембрани мікросудинного русла, а далі призводять до склерозу і гіалінозу стінки. Отже, мікроциркуляторні зміни при цукровому діабеті мають первинний характер [46].

Остеогенез в нормі має багаторівневі системи, що регулюють механізми, які збалансовано, циклічно і динамічно формують процес ремоделювання кісткової тканини. Неузгодженість чи дисбаланс в процесі ремоделювання кісткової тканини відбувається з віком і характеризується поступовим наростанням переважання резорбції над кісткоутворенням [114]. У пацієнтів з гіперглікемією процес утворення кісткової тканини також пригнічується [322]. І якщо при діабеті 1 типу відзначається достовірне зменшення мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ), то при ЦД 2 дані про стан МЩКТ дуже

суперечливі: від низьких до нормальних, або ж навіть підвищених показників [63, 89, 245, 295]. Однак ЦД завжди негативно впливає на міцність кістки незалежно від МЩКТ [250, 270]. International Osteoporosis Foundation віднесла ЦД будь-якого типу до доведених факторів ризику системного остеопорозу [248]. Мета-аналіз показав, що ризик перелому шийки стегна збільшений в 1,64 рази у пацієнтів з цукровим діабетом у порівнянні зі здоровими людьми навіть після корекції мінеральної щільності кісток і додаткових чинників ризику їх перелому [251].

Вплив високого рівня глюкози при ЦД сприяє накопиченню кінцевих продуктів глікірування (AGEs), в колагені AGEs призводять до утворення неферментативних поперечних зшивок. Збільшення числа поперечних зшивок колагену зменшує пластичність матриці, і кістка руйнується при деформації [171]. Було встановлено, що поєднання високого рівня глюкози і AGEs пригнічує остеобластне диференціювання або мінералізацію людських мезенхімальних стовбурових клітин шляхом зменшення експресії остеріксу, збільшення трансформуючого фактора росту (TGF) - β і пригнічення стресових білків ендоплазматичного ретикулула [234, 351], що сприяє низькому рівню кісткового ремоделювання. Коли процес ремоделювання кістки порушений, стара кісткова тканина, яка має колагенові зшивання через AGEs, не буде оновлюватися, що призведе до погіршення якості кістки [96].

Зниженням швидкості обміну кісткової тканини можна пояснити підвищену крихкість кісток у пацієнтів з ЦД. Крихкість кісток у пацієнтів з ЦД 2 типу, що пов'язана зі зменшенням міцності кісток і вадами розвитку колагенових волокон, призводить до неправильної мінералізації і збільшення мікропошкоджень [321, 314].

При зменшеній швидкості ремоделювання стара кістка не замінюється новою, що знижує механічну міцність кістки. Це відображено в дослідженнях, що вказують на те, що у пацієнтів з діабетом спостерігається зниження активності остеобластів [263]. Однак вивчення впливу діабету на резорбцію

кістки дало суперечливі результати, причому деякі дослідження вказують на підвищення активності остеокластів [226, 347].

Неузгодженість процесів кісткового ремоделювання з переважним зниженням кісткоутворення призводить до патогенетичних особливостей формування остеопатії у пацієнтів з ЦД 2 типу [167], що необхідно враховувати і в імплантології порожнини рота. Ризик розвитку остеопорозу у хворих на ЦД 2 типу модифікують ожиріння, якість контролю глікемії, діабетична нефропатія та інші фактори [52, 304].

Остеоінтеграція є основним фактором, що визначає успіх установки зубних імплантатів. Остеоінтеграція – це з'єднання кісткових структур преімплантаційної зони з імплантатом за допомогою утворення кісткової або кісткоподібної субстанції на його поверхні без проміжного сполучнотканинного прошарку, який може бути порушений при ЦД. Цей процес є передумовою для стабільності імплантату і виживання без запалення, що включає ремоделювання навколишньої кістки з міграціями і проліферацією остеобластів і підтримуючої сполучної тканини. На рисунку 1.1 схематично представлений в часі процес остеоінтеграції на поверхні імплантату за відсутності різної патології.

В процесі остеоінтеграції умовно виділяють 3 основні стадії. Перша стадія – це особливе утворення первинного матриксу на поверхні імплантату (у 1-2-у добу). При цьому спостерігаються випадання на поверхні імплантату фібрину, глобулярних білків, міграція і адгезія на поверхні мононуклеарів і їх трансформація в макрофаги, починається прикріплення стовбурових клітин і трансформація частини з них в фібробласти. Після цього починається синтез колагену 2 і 3 типів, певну регулюючу роль в процесі якого відіграє асоціювання макрофагів з фібробластами. Відбувається фібрілізація первинного матриксу, його диференціація шляхом ущільнення. Можливо, збірка «прекісткового» матриксу відбувається без участі остеобластичних елементів, ще до їх диференціювання. Часто зустрічаються клітини, прилеглі до ділянок ранньої «осифікації» (ділянкам утворення гомогенної остеїдної

або цементоподібної речовини), що ще не мають фенотипічних ознак остеобластів, завдяки синтетичній активності яких починається побудова кісткоподібної (цементоподібної) речовини, що триває в більш активній формі на наступній стадії остеointegraції (рис. 1.1).

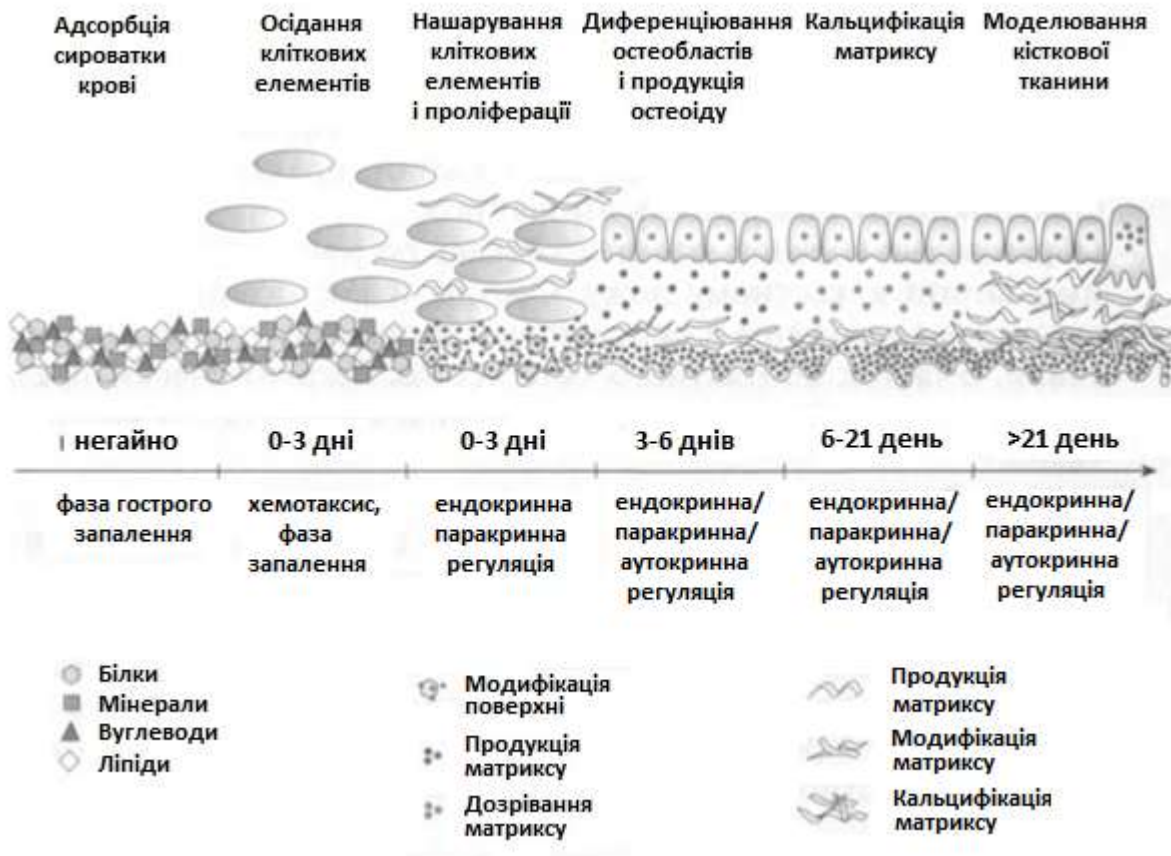


Рис. 1.1 Процес остеointegraції на поверхні імплантату протягом першого тижня. Первинні запальні реакції змінюються процесами утворення і дозрівання кісткової тканини [50].

Друга стадія – фаза диференціації кісткоутворюючих клітин з попередників, що здійснюється на поверхні «прикісткового» матриксу при регулюючому впливі факторів росту, що надходять з резорбуючого матриксу материнської кістки. При цьому спостерігається активний синтез колагену 1 типу кісткоутворюючими клітинами і фібробластами, що диференціювалися на поверхні імплантату, поява ділянок фіброзного кісткового матриксу (2-а доба і далі). У кістковій стінці ложа імплантату розвиваються явища

остеокластичної резорбції. В області інтерфейсу накопичуються речовини, необхідні для побудови кісткового матриксу: глікозоаміноглікани, остеопонтин, фібронектин, остеокальцин, протеоглікани і багато інших. Вони фіксуються в матриксі на поверхні імплантату і разом з синтетично активними клітинними елементами будують кісткову речовину.

Третя стадія – фаза вторинної перебудови або ремоделювання. Стадія вторинної перебудови починається майже з моменту формування остеоїдного матриксу на поверхні імплантату (з 7-14-х діб) і супроводжується побудовою юної трабекулярної кісткової тканини в ділянках активної остеокластичної резорбції недиференційованої кісткової речовини. Надалі процес вторинної перебудови триває 12 місяців і більше, в результаті чого відбувається заміна недосконалої новоствореної кісткової тканини функціонально детермінованими зрілими кістковими структурами.

На процес остеоінтеграції впливає якість кістки. Це залежить від щільності кістки, її анатомічної будови і кількості (об'єму). Якість кістки це співвідношення кількості кортикальної пластинки і губчастої речовини кістки, а також щільність. Сам об'єм кісткової тканини не впливає на остеоінтеграцію, але цей показник дуже важливий для фіксації імплантату. Якщо обсяг кісткової тканини недостатній, то існує ризик механічного перевантаження, а отже, і незадовільного результату лікування [88].

Наявність такої соматичної патології як ЦД істотно впливає на наведений процес остеоінтеграції. У двох незалежних дослідженнях, де вивчали вплив діабету 2 типу на остеоінтеграцію, пацієнти були стратифіковані за рівнями HbA1c: добре контрольовані (HbA1c 6,1-8%), помірно контрольовані (HbA1c 8,1-10%) і погано контрольовані (HbA1c \geq 10%) [301, 302]. Контрольна група здорових пацієнтів мала HbA1c \leq 6%. Пацієнти з погано контрольованим діабетом мали нижчу стабільність імплантатів в перші 2-6 тижнів. У наступні тижні стабільність знову досягала базового рівня, але для досягнення базового рівня потрібно було в два рази більше часу, необхідного в групі здорового лікування. Стабільність імплантатів через 1 рік

після імплантації не розрізнялася між групами навіть з погано контрольованим HbA1c.

Постійна гіперглікемія у людей з діабетом пригнічує остеобластну активність і змінює реакцію паратиреоїдного гормону, який регулює метаболізм Ca і P, [323] зменшує утворення колагену під час утворення калуса [230], викликає апоптоз в слизових клітинах кістки [236], збільшує остеокластичну активність [256, 274] і обумовлений стійкою запальною відповіддю. Він також погано впливає на кістковий матрикс і зменшує зростання і накопичення позаклітинного матриксу [256]. В результаті в процесі загоєння зменшується утворення кістки, що спостерігалось і в експериментальних дослідженнях на тварин [279].

В огляді літератури, опублікованій за останні 10 років, показник виживання імплантатів у пацієнтів з діабетом коливається від 88,8% до 97,3% через рік після установки і від 85,6% до 94,6% в функціональному вираженні через рік після введення протеза. У ретроспективному дослідженні з 215 імплантатами, встановленими у 40 пацієнтів з цукровим діабетом, було зареєстровано 31 неефективних імплантатів, 24 з яких (11,2%) припадають на перший рік функціонального навантаження. Цей аналіз показує виживання 85,6% після 6,5 років функціонального використання. Отримані результати показують більш високий показник відмов протягом першого року після встановлення протеза [223].

Інше дослідження, проведене за участю 34 пацієнтів, яким було встановлено 227 імплантатів, показало, що показник успіху склав 94,3% під час другої операції до введення протеза [177]. У мета-аналізі з двома системами імплантатів, розміщеними у щелепі без зубів, на початкових стадіях частота відмов становила 3,2%, тоді як на більш пізніх стадіях (від 45 місяців до 9 років) ця цифра збільшилась до 5,4% [217].

Проспективне дослідження за участю 89 пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу, яким були встановлені в цілому 178 імплантатів, показує, що частота ранніх відмов склала 2,2% (4 відмови), збільшившись до 7,3% (9 подальших

відмов) через рік після установки, що вказує на виживання 92,7% протягом першого року функціонального навантаження. П'ятирічне виживання склало 90% [305].

Показано, що більшість збоїв при дентальній імплантації відбувається після операції на другій стадії і протягом першого року функціонального навантаження, що вказує на залучення мікросудин, що впливають на відмови імплантатів у пацієнтів з діабетом [219, 310].

У більшості досліджень [219, 223, 305, 310] спостерігався більш високий відсоток невдач дентального ортопедичного лікування у пацієнтів із цукровим діабетом на ранній стадії лікування. У деяких повідомленнях [223, 290, 331] відзначалося збільшення частоти відмов протягом першого року після встановлення імплантату. Опубліковані дані ретроспективного і проспективного досліджень, отримані з різних джерел, показали, що показник успішності імплантації зубів у пацієнтів із цукровим діабетом знаходився в діапазоні 85% [215].

У дослідженнях [278, 293] повідомлялося про значний «імплантологічний збій» у пацієнтів з цукровим діабетом, навіть коли рівень глюкози перебував під адекватним контролем. Одне з цих досліджень ретроспективно включало ранні, а також пізні невдачі імплантології протягом 10 років, але не вказувало глікемічний контроль за цей період. У той час як в іншому проспективному дослідженні спостерігалися значно високі ранні імплантологічні невдачі, імовірною причиною яких була установка декількох суміжних імплантатів у пацієнтів з ЦД, що збільшувало частоту невдач через великі рани, уповільнене загоєння і більшу силу, що здійснювалась над імплантатами. Неадекватний час (тільки період дослідження 90 днів), передбачений для остеоінтеграції і відновлення стабільності імплантату в дослідженні, скоріш за все, став причиною невдачі ортопедичного дентального лікування у пацієнтів із цукровим діабетом [360].

Аналіз впливу ЦД на імплантати виявив зміну процесів ремоделювання кістки і недостатню мінералізацію, що призводить до меншої остеоінтеграції.

При цьому у пацієнтів із цукровим діабетом спостерігалось зниження контакту кістки з імплантатом, що свідчить про те, що цукровий діабет пригнічує остеointegraцію [360].

1.2 Роль генетичних факторів в процесах остеогенезу при дентальній імплантації у пацієнтів із цукровим діабетом

Передопераційна підготовка при дентальній імплантації має включати лабораторні дослідження, спрямовані на оцінку генетичних факторів, які впливають на остеointegraцію і можливу довговічність зубних імплантатів. Для поліпшення клінічного результату і розробки цільової терапії важливо розуміти молекулярні механізми, які призводять до відмови зубного імплантату. Тобто генетичний аналіз має використовуватися профілактично як частина планування імплантації.

Перспективним є вивчення впливу факторів росту на репаративні процеси кісткової тканини, так як відомо, що вони стимулюють міграцію клітин, їх диференціювання і ангиогенез.

Деякі форми інсулінонезалежного цукрового діабету обумовлені дефектами одиничних генів, які і є безпосередньою причиною хвороби. Частка таких моногенних форм серед усіх випадків захворювання невелика (10-15%). Моногенні форми інсулінонезалежного цукрового діабету обумовлені мутаціями генів, що контролюють секрецію інсуліну, енергетичний обмін в бета-клітинах і обмін глюкози в тканинах-мішенях інсуліну. До моногенних форм належать юнацький інсулінонезалежний цукровий діабет (MODY) і деякі варіанти цукрового діабету з мітохондріальних спадкуванням. Більшість форм має полигенну природу. Запропоновано дві гіпотези, що пояснюють генетичну природу «класичного» інсулінонезалежного цукрового діабету. Згідно з першою гіпотезою, існують множинні генетичні дефекти, що викликають інсулінонезалежний цукровий діабет або зумовлюють схильність до нього. Згідно з другою гіпотезою, «класичні» форми обумовлені не

мутаціями, а змінами рівня експресії генів, що контролюють секрецію інсуліну і дію інсуліну на тканини-мішені. Певні поєднання генів обумовлюють схильність до хвороби, а її розвиток і клінічний прояв визначаються такими факторами, як ожиріння, неправильний режим харчування, малорухливий спосіб життя і стрес [2]. Тобто в обох випадках для виникнення інсулінонезалежного цукрового діабету потрібно вплив негенетических факторів, в тому числі факторів зовнішнього середовища.

Ризик інсулінонезалежного цукрового діабету у найближчих родичів хворих в середньому становить 40%, що говорить про сімейний характер цього захворювання. У дітей хворих ризик становить 50%, якщо хворий батько, і 35%, якщо хвора мати. Конкордантність по інсулінонезалежний цукровий діабет у однойцевих близнюків досягає 80% [3].

Порушення при цукровому діабеті обумовлені, в першу чергу, макро- і мікроангіопатичними ускладненнями: атеросклерозом та ішемічною хворобою серця (ІХС), нефропатією, ретинопатією, нейропатією і остеоартропатією. Сучасні дослідження показали, що цукровий діабет, в тій чи іншій мірі, прямо або побічно вражає всі тканини організму [360].

Що стосується впливу на тканини порожнини рота, було визнано захворювання пародонту шостим основним ускладненням діабету [277]. У ряді досліджень доведено несприятливий вплив хронічної гіперглікемії на слизову оболонку порожнини рота і альвеолярну кістку [320]. Цукровий діабет негативно впливає на здоров'я пародонта, що призводить до гінгівіту, пародонтиту та випадання зубів [173]. Виявлено, що у віддаленому періоді (через 8 років) максимальна втрата імплантатів в групі у пацієнтів з цукровим діабетом становить 29,7% [58]. Традиційні методи лікування цукрового діабету (дієтотерапія, інсулінотерапія, застосування пероральних цукрознижуючих засобів) дозволяють впоратися з гострими метаболічними порушеннями і істотно знизити тяжкість захворювання, але не можуть запобігти хронічних ускладнень.

Хронічне запалення низької інтенсивності і порушення регуляції ангиогенезу є характерною рисою ЦД 2 типу. Варіабельність глікемії і ожиріння сприяють розвитку хронічного запалення при даному захворюванні. Макросудинні ураження (ІХС, макроангіопатія нижніх кінцівок) у хворих на ЦД 2 типу розвиваються на фоні зниження гуморального ланки ангиогенезу. Імуногенетичні фактори можуть модифікувати активацію запальних сигнальних шляхів і порушення регуляції ангиогенезу у хворих на ЦД 2 типу [53]. Гіперглікемія - не тільки основний патогенетичний фактор розвитку ЦД 2 типу.

Високі концентрації глюкози в крові призводять до змін в клітинній морфології, зниження проліферації і неправильної диференціації кератиноцитів [340]. На фоні тривалої декомпенсації ЦД відбуваються зміни в імунній системі: зниження кількості лейкоцитів і лімфоцитів, порушення основних функцій у нейтрофілів і макрофагів, в тому числі адгезія, хемотаксис і фагоцитоз [283], редукція бактерицидної здатності, зменшення адгезії ПЯЛ і зниження функції апоптозу [355]. Встановлено, що у пацієнтів з хронічною гіперглікемією має місце підвищення виділення прозапальних цитокінів (ФНП α , ІЛ 6, ІЛ 8, активних форм кисню) і зниження секреції ендотеліального оксиду азоту, що сприяє вазоконстрикції [209, 229, 307].

У пародонті діабет впливає на остеокласти і остеобласти по-різному, наприклад, шляхом збільшення експресії медіаторів запалення і співвідношень RANKL / остеопротегеріна (OPG) і шляхом підвищення рівнів AGEs і ROS (рис. 1.2).

AGE – вдосконалений кінцевий продукт глікірованія; ІЛ- інтерлейкін; OPG-остеопротегеріна; PDL-пародонтальна зв'язка; RANKL- рецептор-активатор ліганда ядерного фактора каппа-В; АФК-активні форми кисню; ФНО- фактор некрозу пухлини.

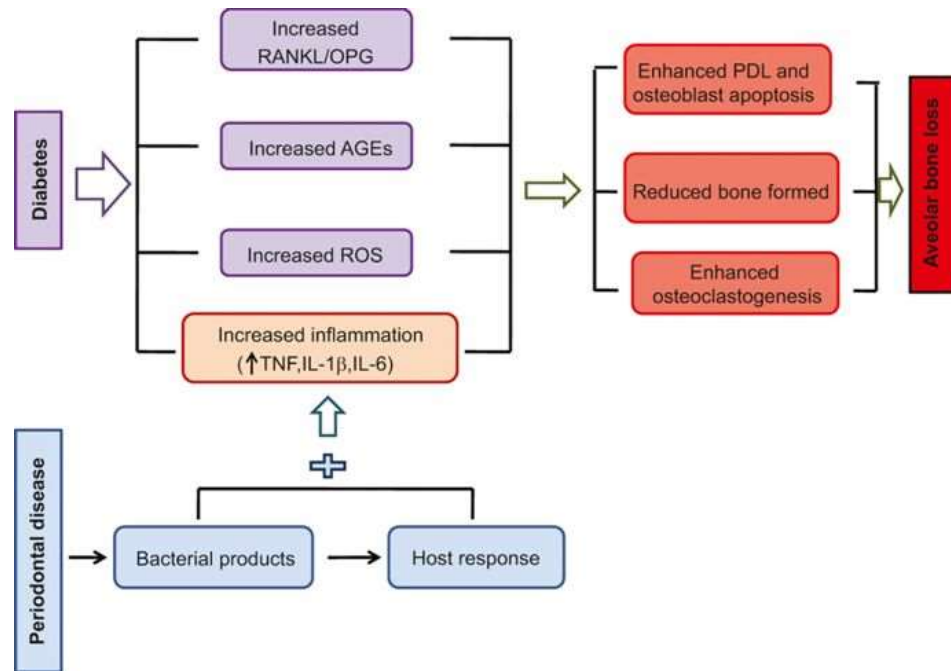


Рис. 1.2 Потенційний механізм втрати альвеолярного відростка, пов'язаної з діабетом, при захворюваннях пародонту.

Діабет збільшує відношення RANKL / OPG і підвищує рівень експресії AGE, ROS і медіаторів запалення, які викликають апоптоз остеобластів і остеокластогенез. Цей каскад подій сприяє як збільшення резорбції кістки, так і зменшення репаративного формування кістки, що призводить до більшої втрати альвеолярної кістки [375].

Склад кістки становить приблизно 10% клітин, 60% мінеральних кристалів (кристалічний гідроксиапатит) і 30% органічної матриці. Органічна матриця включає перш за все колаген типу 1 (88%). Інші білки складають 10%, а ліпіди і глікозаміноглікани (ГАГ) складають 1-2% [318].

Основним структурним білком кістки, дентину та інших волокнистих тканин є колаген I типу COL1A1. Волокнистий колаген є основним компонентом хрящової тканини і входить до складу більшості інших сполучних тканин. Ген кодує амінокислотну послідовність альфа-1-ланцюг білка колагену 1 типу. Колаген тип 1 - найбільш поширений білок матриксу сполучної (до 25-30%) і кісткової (90%) тканин. Він надає механічну міцність і виконує морфогенетичного функцію, впливаючи на зростання, міграцію і

диференціювання клітин, визначає їх секреторну і синтетичну активність. Молекула проколагену типу I складається з двох ланцюгів $\alpha 1$ (I) (кодованих COL1A1 на хромосомі 17) і однієї схожої, але відмінною ланцюга $\alpha 2$ (I) (кодується COL1A2 на хромосомі 7). Для первинної структури молекул колагену характерна часта повторюваність послідовності гліцил-пролив-оксіпроліл. Завдяки колагену кісткова тканина поєднує твердість і міцність з гнучкістю і еластичністю. Колаген тип 1 відноситься до фібрилярні, або інтерстиціальним білків. Його фібрили входять до складу сполучної і кісткової тканин. Крім остеобластів, колаген тип 1 виробляє також фібробласти, хондробласти і ретикулярні клітини.

Поліморфізм 2046 G-> T гена COL1A1 є точковою заміною нуклеотиду гуаніну на тимін, що призводить до порушення сайту зв'язування для фактора транскрипції гена COL1A1 в області першого інтрону. У носіїв варіанту T даного поліморфізму спостерігається порушення нормального співвідношення субодиниць в молекулі колагену, що призводить до погіршення його механічних властивостей. Внаслідок цього носії варіанту T, особливо жінки в постменопаузі, гомозиготні за цим варіантом, схильні до остеопорозу, кістковим переломів. Показано зв'язок мінеральної щільності кісткової тканини з поліморфізмом у регуляторній області гена COL1A1. Збільшення рівня транскрипції гена COL1A1, викликане поліморфізмом регуляторної області, призводить до зміни співвідношення альфа 1 і альфа 2 ланцюгів колагену. Це викликає дезорганізацію міжклітинної матриксу та ініціює процес прогресивного зниження мінеральної щільності кісткової тканини [4]. У гені COL1A1 ідентифіковано кілька варіантів поліморфізму, однак асоціація з остеопорозом показана тільки для G-T поліморфізму (в положенні +1245) регуляторної області гена COL1A1 (інтрон 1) в сайті впізнавання фактора транскрипції Sp1 [231]. У нормі при формуванні генетичного волокна відбувається об'єднання двох ланцюгів проколагену альфа1 і одного ланцюга проколагену альфа2 в спіральний гетеротрімер. При порушенні нормального співвідношення альфа1 і альфа2 ланцюгів (2:1) структура

генового волокна порушується. Замість звичайних гетеротрімерів виникають гомотрімери – молекули колагену, що складаються з трьох ланцюгів проколагену альфа1. Це супроводжується порушенням процесів мінералізації кісткового матриксу. Саме таким ефектом володіє G-T поліморфізм в промоторі гена COL1A1. Промоторних область гена COL1A1, що містить функціонально неповноцінний T (s) аллель, має в 1,8 рази більшу спорідненість (афінність) до зв'язування транскрипційного фактора Sp1 в порівнянні з нормальним G (s) аллелем [241]. Мутації як в генах COL1A1, так і в генах COL1A2 широко відомі як причина недосконалого остеогенезу [193], генетичного захворювання, яке вражає більше 1 на 10000 особин і характеризується крихкими кістками, деформаціями скелета часті переломи кісток або навіть пренатальна смерть. Мутації в цьому гені асоційовані з розвитком незавершеного остеогенезу, синдромом Елерса-Данло та ідіопатичним (спонтанним) остеопорозом. Генетичним дефектом в 90% випадках захворювання є мутації в двох генах колагену I типу - $\alpha 1$ ланцюга (COL1A1) і $\alpha 2$ ланцюга (COL1A2).

Було виявлено близько 300 мутацій COL1A2, які викликають захворювання. Мутації в цьому гені іноді викликають недосконалий остеогенез I типу, найлегшу форму цього розладу. Однак більшість мутацій COL1A2 викликають більш важкі форми недосконалого остеогенезу.

Деякі мутації COL1A2 видаляють фрагменти гена, що призводить до ланцюга pro- $\alpha 2$ (I), в якій відсутні критичні області. Інші генетичні зміни змінюють послідовність білкових будівельних блоків (амінокислот) в ланцюзі pro- $\alpha 2$ (I), зазвичай замінюючи амінокислоту гліцин інший амінокислотою. У деяких випадках амінокислотні заміни змінюють один кінець білкової ланцюга (званий C-кінець), що заважає складанні молекул колагену. Ці мутації COL1A2 перешкоджають нормальному виробленню колагену I типу. Коли аномальний колаген включається в країни, що розвиваються кістки і інші сполучні тканини, це викликає серйозні медичні проблеми, пов'язані з важкими формами недосконалого остеогенезу [254].

Кілька мутацій в гені COL1A2 були виявлені у людей з артрохалазичним типом синдрому Елерса-Данлоса [338]. Ці мутації, які зачіпають одну копію гена COL1A2 в кожній клітині, видаляють сегмент ланцюга pro- α 2 (I), який приєднує одну молекулу колагену до іншої. Відсутність цього важливого сегмента перешкоджає нормальній зборці фібрил колагену типу I і змінює поперечну зв'язок між молекулами колагену. Ці зміни в основному торкаються тканини, які багаті колагеном I типу, такі як шкіра, кістки і сухожилля.

В даний час більше 800 мутацій COL1A1 і COL1A2 були ідентифіковані у пацієнтів з недосконалим остеогенезом [183].

Колагенові фібрили розрізняються по діаметру від 30 до 500 нм в залежності від типу тканини, віку, генетичних дефектів і методів виявлення [300]. Середнє значення діаметра колагенових фібрил дентину людини – 100 нм [272].

Колагенові фібрили періодично утворюють проміжки і зони перекриття через шахового розташування послідовних молекул колагену. Їх періодичність, або D-відстань, залежить від стану гідратації фібрил і може варіюватися при різних захворюваннях [272, 306].

Нормальні колагенові фібрили в дентині випадковим чином орієнтовані в площині, перпендикулярній просвіту каналців, і утворюють повстяну структуру фібрил [262]. Для утворення колагенових волокон достатньої міцності необхідно зв'язування включених до складу агрегатів макромолекул тропоколагену за допомогою системи внутрішньо-і міжмолекулярних поперечних зв'язків. Лише після завершення формування цих ковалентних зв'язків досягається стабілізація колагенових структур.

Чому кісткова тканина стає слабкішою, не до кінця зрозуміло, хоча були проведені значні дослідження. Наприклад, більш низьке співвідношення Ca / P в кістці може бути чинником, що сприяє крихкості кістки при недосконалості остеогенезу [326]. Мутації в гені COL1A1 і COL1A2 можуть вносити зміни в молекулу колагену [193]. Такі зміни в колагенових фібрилах можуть впливати на освіту і стабільність кісткових мінералів [193]. Дефекти будови кісткової

тканини при порушеному співвідношенні варіантів ланцюгів колагену можуть сприяти більш інтенсивного руйнування кістки і втрати зуба. У багатьох дослідженнях робилися спроби пов'язати специфічні генні мутації з фенотипическою вагою дентину, проте залишається невідомим, як мутації в гені COL1A1 впливають на механічну поведінку дентину, колагену і матриксу.

Недавні дослідження показують, що недосконалий остеогенез являє багатомасштабні зміни на генетичному, нано-, мікро- і макрорівні [258]. За даними [368] мутації в гені колагену I типу безпосередньо пов'язані зі змінами механічної цілісності дентину на нанорозмірному рівні. В колагені, що мутує, було виявлено збільшене D-періодичне відстань, змінно збільшене покриття з колагенових фібрил з меншою кількістю мінералів. АСМ-аналіз показав більш грубу поверхню дентину і рідкісне зменшення модуля Юнга в дентині [368].

Недавні докази загального регуляторного контролю як глікемічного, так і кісткового гомеостазу вказують на тісний зв'язок між цими двома напрямками і аналогічно ймовірності впливу антидіабетичних агентів на якість кістки. Загальний регуляторний контроль включає накопичення передових продуктів глікірованія (AGE), інсуліну, інсуліноподібного чинника росту-1 (IGF-1), гамма-рецептора, який активується проліфератором пероксисом (PPAR γ), інкретінових гормонів, таких як залежний від глюкози інсулінотропний пептид (GIP), глюкагоноподобний пептиди 1 і 2 (GLP-1 і GLP-2), похідні з кістки гормони остеокальцин і склеростін [322]. Присутність глюкози викликає утворення проміжних продуктів, що містять високореактивні дікарбоніли, що в кінцевому підсумку призводить до необоротного накопичення сполук кінцевих продуктів пізнього глікірованія [336] з неферментативного процесу глікірованія [296]. Скупчення AGE визначають утворення дефектних колагена і активних форм кисню, викликаючи структурні зміни в кістки за допомогою посттрансляційних модифікацій [346]. В органічному кістковому матриксі ці реакції можуть привести до погіршення міцності кістки [174, 238]. Повідомляється, що більш високі рівні циркулюючого AGE збільшують ризик переломів [216].

Повідомлялося про тісний взаємозв'язок між глюкозою і метаболізмом кісток [342-344].

В роботі [373] був описаний зв'язок між глюкозою, жиром і кістковим обміном. Автори припустили, що остеокальцин, важливий кісткоутворюючий маркер, в некарбоксилірованій формі і білках сигнального шляху Wnt, може модулюватися, збільшуючи крихкість кісток у пацієнтів з діабетом [291]. Більш того, в T2DM можуть бути також змінені модифіковані кінцеві продукти глікірування (AGE) і інсуліноподібний фактор росту-I (IGF-1), які регулюють кістки [289, 373].

AGE утворюється в результаті підвищеного рівня глюкози в крові, який викликає неферментативне глікозування і зв'язується з його рецептором (RAGE), який активує фактор транскрипції ядерного фактора - κ B (NF- κ B). Це призводить до підвищеної експресії рецепторного активатора остеокластогенезу, опосередкованого лігандом (RANKL-) ядерного фактора, опосередкованого каппа-B [211, 369].

Накопичення AGE можуть також стимулювати інтерлейкіни, такі як IL-6, які знижують проліферацію і активність остеобластів при одночасному підвищенні остеокластичної активності [289]. Швидкість ремоделювання генового волокна в організмі дуже мала. За оцінками, час полупревращения колагену становить понад 100 років і глікації грає ключову роль в патогенезі і при старінні організму.

Діабет підсилює тяжкість періодонтиту і прискорює резорбцію кістки. Ризик і ступінь втрати альвеолярної кістки позитивно корелює з відсутністю глікемічного контролю [352, 353].

Ген COL2A1 кодує колаген типу II α 1, головний компонент позаклітинного матриксу. Колаген типу II, основний структурний компонент суглобового хряща, кодується одним великим геном (COL2A1) в хромосомі 12. Колаген типу II α 1 (COL2A1) становить 90% колагену в гиалиновом суглобовому хрящі і міжхребцевому диску. Проколаген типу II складається з трьох ідентичних про- α 1 (II) ланцюгів (кодується COL2A1). Перший крок в

синтезі колагену типу II включає три про- $\alpha 1$ (II) ланцюга, що скручуються разом, щоб сформувати трьохланцюгову молекулу проколагену. Цей проколагеновий ланцюг містить N- і C-кінцевий пропептид зрілої амінокислотної послідовності. Потім пептид секретується в позаклітинний матрикс і розщеплюється з утворенням зрілої молекули колагену типу II [207].

Мутації в гені COL2A1 сприяють розвитку багатьох захворювань, включаючи ахондрогенез 2-го типу, виражену дисплазію, синдром Стіклера 1-го типу, ранній початок сімейного остеоартриту, вроджену спонділоепіфізарну дисплазію, ахондрогенез Лангера-Сальдіно і спонділоепіметафізарну дисплазію за типом Струдвіка [202].

Колаген типу II зустрічається головним чином в хрящі, в жорсткій, але гнучкій тканині, яка становить більшу частину скелета в ранньому розвитку. Велика частина хряща пізніше перетворюється в кістку, за винятком хряща, який продовжує покривати і захищати кінці кісток і присутній в носі і вушних раковинах. Мутації в гені COL2A1 можуть порушити спіралі колагену, змінити фібріллогенезу і зменшити секрецію колагену [312, 317].

Повідомлялося, що мутації в гені альфа-1 колагену типу II (COL2A1) відповідають за ряд порушень, відомих як колагенопатії типу II. На сьогоднішній день було описано, що 16 певних порушень, успадкованих за аутосомно-домінантним або рецесивним типом, пов'язані з мутаціями COL2A1, і було повідомлено щонайменше про 405 мутаціях, починаючи від точкових мутацій до складних перебудов [207]. Мутації в гені COL2A1 викликають спектр рідкісних аутосомно-домінантних станів, що характеризуються дисплазією скелета, невисоким зростом і сенсорними дефектами.

Рання діагностика має вирішальне значення для надання допомоги пацієнтам і подальшого спостереження, а також генетичного консультування. Було зареєстровано понад 700 пацієнтів з 415 різними мутаціями. Одна третина мутацій є домінантно-негативними мутаціями, які впливають на залишок гліцину в G-X-Y повторах ланцюга альфа-1. Ці мутації порушують

потрійну спіраль колагену і поширені в ахондрогенез II типу і гіпохондрогенез. Мутації, що призводять до передчасного стоп-кодону, виявляються при менш серйозних фенотипах, таких як синдром Стіклера [179].

Виявлена асоціація поліморфізму COL2A1 C> A (rs1635529) з розвитком хронічного генералізованого пародонтиту [44]. Статистично значимі відмінності за частотою генотипів були виявлені для поліморфізму в гені колагену COL2A1 C> A (rs1635529). Частота народження алелі C була достовірно вище в основній групі в порівнянні з контролем. Гомозиготний варіант CC в дослідженому локусе у пацієнтів з пародонтитом зустрічався в 1,5 рази частіше, ніж у групі здорових осіб [44]. Був виявлений зв'язок між поліморфізмом в гені COL2A1 і нижньощелепним прогнатизмом rs17801742 в COL2A1 ($p = 8.5 \times 10^{-5}$) [370]. При дослідженні 144 пацієнтів з дефектами щелепно-лицевої ділянки, які були направлені на ортогнатичну хірургію, виявлений зв'язок між фенотипами зубощелепної деформації і рецесивною моделлю гена COL2A1 (rs1793953) ($p = 0,028$). Крім того, в моделі лінійної регресії особи з генотипом TT в rs2276454 мали нижчі значення положення різців верхньої і нижньої щелеп (кутове і лінійне) в порівнянні з генотипом CC ($p = 0,049$; коефіцієнт $b = 0,069$) [328].

Виявлення індивідуальних генетичних предикторів остеопорозу є важливим завданням персоналізованої медицини. Серед молекул, залучених в ремоделюванні кісткової тканини, важливу роль відіграють цитокіни, а також ферменти з групи матриксних металопротеїназ (MMPs). Матричні металопротеїнази (MMP) представляють собою сімейство цинк (Zn) -залежних ендопептидаз, які здатні розщеплювати практично всі субстрати позаклітинного матриксу та відіграють важливу роль в різноманітних фізіологічних і патологічних процесах, які сприяють деградації і видалення колагену з пошкодженої тканини. Матричні металопротеїнази (MMP) представляють собою основний клас ферментів, відповідальних за метаболізм позаклітинного матриксу. Матріксіни є основними регуляторами складу

позаклітинного матриксу, своєчасна деградація якого лежить в основі процесів ембріогенезу, морфогенезу, репарації та ремоделювання тканин [187, 334].

Активність ММР регулюється на декількох рівнях. Транскрипційні регуляція ММР є ключовий крок у регулюванні ММР. ММР секретуються запальними клітинами у відповідь на стимули, такі як ліпополісахариди і цитокіни [188]. Попередні дослідження також показали, що протеїнази (колагенази, желатинази, еластази) присутні в періпер-імплантаційній сірчистій рідині [228, 247, 282] і можуть грати патологічну роль у втраті періімплантної кістки [268].

Існують різні типи ММР, які відрізняються структурно і функціонально.

Коллагеназа фібробластний тип (ММР-1) являє собою інтерстиціальну колагеназу, що експресується найбільш широко серед тканин, і тому відіграє помітну роль в деградації колагену. ММР-1 руйнує I, II, III і IX типи колагену, які є основними білковими компонентами позаклітинного матриксу [204, 372].

Інтерстиційна колагеназа дозволяє остеобластам ініціювати резорбцію кістки, генеруючи фрагменти колагену, які активують остеокласти [242]. Зазвичай експресія ММР-1 низька, але вона легко індукується ефірами форбол, факторами росту і запальними цитокінами [189].

Поліморфізми в генах ММР в значній мірі пов'язані з рядом патологій зубів і кісток, і їх присутність в періімплантній рідині може спровокувати захворювання періімплантата з подальшою втратою кісткової маси [199].

Надекспресія ММР-1 пов'язана з декількома патологічними станами [362]. Введення гуаніну в положення -1607 гена ММР-1 людини створює алель 2G, який, як показано, збільшує транскрипційну активність. Наявність цього алеля було пов'язано зі зміною мінеральної щільності кістки [372]. У хворих зі зниженою МПК (остеопенією або остеопорозом), в порівнянні з іншими обстеженими, достовірно частіше виявлявся алель G в поліморфній позиції -174 гена IL-6 (OR = 1,6, p = 0,01), а також алель C в поліморфній позиції -1562 гена MMP9 (OR=1,92, p=0,007) [154, 175].

Було показано, що алель 2G (вставка гуаніну в положення -1607 в області промотора людської матричної металопротеїнази 1 (ММР-1) був присутній у 50% пацієнтів з ранньої втратою остеоінтегрованих оральних імплантатів. У контрольній групі алель 2G спостерігався у 25% ($p = 0,013$). Генотип 1G / 1G був виявлений у 61,5% контрольної групи, тоді як у всіх пацієнтів в тестовій групі був генотип 1G / 2G ($p < 0,001$). Ці результати припускають зв'язок поліморфізму в промоторній області гена ММР-1 з ранньої втратою імплантату [325]. Зв'язок поліморфізму G-1607GG в гені ММР-1с ранньої втратою імплантату підтверджені Shilin з співавторами. у пацієнтів з генотипом ММР-1-1607 (1G / 2G) спостерігалася значно вища частота ранньої втрати імплантату, ніж у пацієнтів з геном ММР-1-1607 (1G / 1G). ($P < 0,05$). OR для 1G / 2G у порівнянні з 1G / 1G для генотипу ММР-1-1607 було 13,894 ($P < 0,05$) [332].

В цілому, колагеназа може викликати підвищене руйнування протеолітичної тканини в перепротезній тканині [172]. Оскільки підвищені рівні цих медіаторів присутні в місцях ураження імплантатів, їх аналіз може забезпечити ефективний моніторинг захворювання навколозубних імплантатів. На підставі дослідження 60 пацієнтів, у яких не було дефекту імплантату, і 44 пацієнтів, у яких діагностували втрату імплантату, результати показують, що поліморфізм G-1607GG в промоторі гена ММР-1 може бути фактором ризику для ранньої втрати імплантату. Передбачається, що гаплотипічна комбінація поліморфізму G-1607GG і A-519G в гені ММР-1 може впливати на процес остеоінтеграції. Даний поліморфізм може бути використаний в якості генетичного маркера невдалих імплантатів [268].

В цій області була проведена обмежена кількість комплексних досліджень, однак з вивчених поліморфізмів, поліморфізм ММР-1 (-519), ММР-1 (-1607), ММР-8 (-799) і ІЛ-4 (+33) демонструють найбільший зв'язок з втратою зубного імплантату [378].

В роботі [214] показано, що сироваткові рівні ММР1 діабетичних пацієнтів достовірно вище, ніж у осіб з нормальним метаболізмом глюкози.

Аналіз розподілу генотипів у діабетичних пацієнтів виявив асоційованість генотипу 2G2G з високим рівнем MMP1.

Основним негативним фактором при ЦД є гіперглікемія, в умовах якої активуються різні механізми, в тому числі фактори росту фібробластів (β -FGF, TGF- β 1) [309]. У свою чергу, це призводить до патологічної зміни функцій фібробластів: вони починають продукувати в позаклітинне середовище власні фактори росту, замикаючи тим самим «порочне коло» [208]. В умовах інсулінорезистентності і гіперглікемії, характерних для ЦД 2 типу, фібробласти глікуються під впливом величезної кількості накопичених з віком кінцевих продуктів глікування (AGE). Внаслідок цього фібробласти трансформуються в міофібробласти і адипоцити, починають безконтрольно синтезувати колаген, еластин, протеоглікани і інші компоненти позаклітинного матриксу [271]. Таким чином, спостерігається активна перебудова сполучної тканини і зміна структури судинної стінки. Спостерігається інтенсивне накопичення холестерину в фібробластах, що призводить до зростання атеросклеротичної бляшки і подальшого розвитку незворотних макросудинних ускладнень [243].

Тканинні фактори росту є найпотужнішими модуляторами зростання і розвитку тканин організму, в тому числі і опорно-рухового апарату. Трансформуючі фактори росту стимулюють проліферацію кісткової тканини [57, 266], колагену [269].

Секретуємий TGFB1 є важливим регулятором проліферації і диференціювання остеобластів і безпосередньо впливає на формування кісток *in vivo* [198].

Трансформуючий фактор росту- β (TGF- β) відноситься до сімейства багатофункціональних чинників зростання, які надають глибоке регуляторне вплив на багато розвиваючі та фізіологічні процеси [267]. Ген людського TGF- β 1 розташований на хромосомі 19q13.1-13.3 і в даний час відомо більше 10 поліморфних локусів, розподілених в екзонах, інтрони і області 5'-flanking [366]

TGF β - це мультипотентний цитокин, що є важливим модулятором клітинного росту, запалення, проліферації і диференціювання позаклітинного матричного депонування і апоптозу. TGF- β інгібує проліферацію і міграцію гладком'язових і ендотеліальних клітин, має інгібуючі ефекти на імунну систему, пригнічуючи гемопоєз і прозапальний цитокиновий відповідь. TGF- β 1 бере участь в патогенезі гломерулярних захворювань, таких, як діабетична нефропатія та гломерулосклероз. В умовах інсулінорезистентності і гіперглікемії, характерних для ЦД 2 типу, фібробласти трансформуються в різні клітини сполучної тканини, безконтрольно синтезуючи колаген, еластин, протеоглікани і інші компоненти ВМ, з розвитком в майбутньому активної перебудови сполучної тканини і зміні судинної стінки [257].

TGF- β виявляють три основних типи біологічної активності: вони інгібують проліферацію більшості клітин, але можуть стимулювати зростання деяких мезенхімальних клітин; мають імуносупресивні ефектом і підсилюють формування міжклітинної матриксу. Два типу мембранних рецепторів, що володіють кіназної активністю, залучені в сигнальну трансдукції. TGF- β беруть участь в загоєнні ран, в запальному процесі від початку запальної реакції і потім аж до припинення запальних явищ через хемотаксис запальних клітин і фібробластів. TGF- β 1 володіє інгібуючої активністю по відношенню до Т- and В-клітинної проліферації, а також до дозрівання і активації макрофагів. Він пригнічує активність НК-клітин, лімфокін-активованих кілерів і блокує продукцію цитокінів.

TGF- β має такі основні активності – він інгібує проліферацію більшості клітин, але може стимулювати зростання деяких мезенхімальних клітин; має імунодепресивну дію і зменшує запалення; бере участь у відкладенні позаклітинного матриксу та сприяє загоєнню ран [267, 324]. В здоровому організмі TGF- β бере участь в процесах загоєння ран і в запуску запальних реакцій. Останні ефекти TGF- β частково обумовлені їх хемотаксичним тяжінням запальних клітин і фібробластів [267]. При захворюваннях пародонту концентрація TGF- β безпосередньо пов'язана з індексом бляшок і

глибиною зондуючої кишені. Крім того, було виявлено зниження рівнів концентрації ясенної рідини після хірургічного лікування періодонтиту [327]. Джерелами TGF- β є переважно моноцити і макрофаги, що містять його постійно, але секретуючі тільки при активації [379]. Крім того, TGF- β можуть продукувати і інші клітини, такі як фібробласти, ендотеліоцити, нейтрофіли, еозинофіли, тучні клітини, клітини гладеньких м'язів, а також клітини багатьох видів злоякісних пухлин [51, 212].

Важливим механізмом регуляції продукції TGF- β є зміна його форми (активна і латентна). TGF- β зазвичай секретується в біологічно неактивній формі, званої латентним TGF- β , який не здатний взаємодіяти з відповідним рецептором. Активація гена TGF- β 1 відбувається у відповідь на пошкодження тканин [261]. Виявлено, що TGF- β 1 є багатофункціональним чинником з різноспрямованою дією. Для одних і тих же фізіологічних процесів були виявлені стимулюючі і інгібуючі ефекти TGF- β 1, а в деяких випадках і відсутність його впливу. При гострому запаленні описано участь TGF- β 1 в регуляції експресії адгезійних молекул, їх лігандів і прискоренні процесів репарації [51, 157, 186].

Ожиріння призводить до запуску ряду фібротичних процесів, включаючи активацію трансформуючого фактора росту β [166, 267].

Було показано, що однонуклеотидні поліморфізми в промоторній області гена β -1 трансформуючого фактора росту людини, C-509T і G-800A, збільшують транскрипційну активність цього цитокіну та пов'язані з різними захворюваннями. Чисельні дослідження, проведені в різних популяціях, показали, що поліморфізм T869C пов'язаний зі зміненою експресією білка TGF- β 1 і що алель C позитивно корелює з концентрацією TGF- β 1 в сироватці [253]. Вважається, що цей ефект можна пояснити заміною алелі C на T в T869C, в якому лейцин замінений пролином, що прискорює гідроліз попередника TGF- β 1 до зрілого білка TGF- β 1 [292]. Іншим часто вивчаються SNP є поліморфізм TGF- β 1 G915C (rs1800471; кодон 25). Алель G також асоційований зі збільшенням продукції TGF- β 1 [319]. Крім того, SNP T869C

пов'язаний з концентраціями холестерину і тригліцеридів в плазмі, і суб'єкти з генотипом CC + CT показали більш високі рівні в плазмі, ніж ті, які мають генотип TT.

Аналіз комбінованих генотипів як для поліморфізмів C-509 -> T, так і для T869 -> C показав, що мінеральна щільність кістки знижується, а сприйнятливість до остеопорозу збільшується зі збільшенням кількості алелей T [372].

Для вивчення можливого зв'язку між однонуклеотидним поліморфізмом TGF- β 1 і ранньою імплантологічною невдачею вибірку з 68 пацієнтів, що палять, була розділена на дві групи: контрольна група, що складається з 28 пацієнтів з одним або декількома ранніми невдалими імплантатами, і контрольна група, що складається з 40 чоловік з одним або декількома здоровими імплантатами. Розподіл гаплотипів, розташованих у вигляді алелей і генотипів, було однаковим у контрольній і тестовій групах. Ці результати вказують на те, що поліморфізм C-509T і G-800A в гені трансформуючого фактора росту β 1 не пов'язані окремо або в комбінаціях гаплотипов з ранньою імплантологічною невдачею, що дозволяє припустити, що наявність одних тільки цих однонуклеотидних поліморфізмів не представляє собою генетичний ризик невдачі [213].

Цитокіни, такі як TGF- β і MMPs, можуть впливати на активність прикріплення і синтетичну активність остеобластів і викликати зниження кісткового матриксу та відкладення мінералів [264]. Після ініціації TGF-1 диференціювання остеобластів ключовим фактором, відповідальним за подальшу диференціацію, є IGF-1.

Важливим фактором диференціювання остеобластів, а також зростання кістки, є IGF-I (інсуліноподібний фактор росту), який виробляється остеоцитами і зрілими остеобластами і депонується в кістки, вивільнюючи в міру резорбції. Інсуліноподібний фактор росту IGF являє собою пептид, який стимулює ріст кісток, диференціювання клітин і метаболізм. Ген IGF- I розташований на довгому плечі хромосоми 12q22-24.1, а кодований білок IGF-

І являє собою одноланцюговий поліпептид з 70 амінокислотами. IGF-I виробляється в печінці, кісткових клітинах і інших тканинах і стимулює соматичний ріст і бере участь в зростанні і метаболізмі клітин [110]. IGF- I, і його специфічний рецептор (IGF-IR) мають сильну структурну гомологію з проінсулином і рецептором інсуліну [180]. Отже, вони істотно впливають на метаболізм глюкози і білка в додаток до своїх мітогенний ефектів, сприяючи тим самим основним шляхам загострення і/або розвитку діабетичних мікроангіопатичних ускладнень [280, 361].

Секреція цього пептиду в основному регулюється гормоном росту [224]. Інсуліноподібний фактор росту IGF-I також позитивно регулюється загальним споживанням калорій і білків і інсуліном [197], так що IGF-I в кровотоці також є маркером стану харчування. Було підраховано, що до 60% дисперсії рівня IGF-1 в сироватці мають генетичну основу [235]. Інсуліноподібний фактор росту (IGF) є важливими регуляторами функції кісткових клітин [284, 286]

Багато експериментальних досліджень показали, що експресія IGF-I віграє важливу роль у формуванні кістки і її втрати [276, 335].

Гормон росту має основний регулюючий вплив на метаболічні дії як IGF-I, так і інсуліну і функціонує декількома важливими способами, які зовсім відмінні від інсуліну і IGF-I, щоб модулювати доступність поживних речовин, яка необхідна як для збалансованого зростання тканин, так і для підтримки нормального метаболізму. Як загальне споживання калорій, так і споживання білка є важливими регулюючими факторами [249]. Ефект споживання калорій такий, що, якщо споживання калорій зменшується приблизно на 50%, відбувається значне зниження секреції IGF-I. Ефект білка більш виражений в тому, що навіть невелике зниження призводить до змін IGF-I [358].

На кожні 25% зниження споживання білка відбувається еквівалентне зниження IGF-I. Хоча IGF-I класично вважається важливим фактором зростання, оскільки він стимулює зростання всіх типів клітин, він значно метаболічну дію. Цей ефект IGF-I на метаболізм полягає в наданні клітинам сигнал про те, що є достатня кількість поживних речовин, щоб уникнути

апоптозу, підвищити синтез клітинного білка, дати клітинам можливість піддаватися гіпертрофії у відповідь на відповідний стимул і стимулювати поділ клітин [358].

IGF-I сприяють проліферації і диференціюванню остеокластів і сприяють синтезу і мінералізації кісткового матриксу [329]. В хрящовій тканині інсуліноподібний фактор росту регулює проліферацію і дозрівання хондроцитів, дозволяючи формувати кістки відповідного розміру і міцності [365]. Ряд досліджень *in vitro* і *in vivo* продемонструвала важливість передачі сигналів IGF-1 для нормального розвитку і функціонування остеобластів. Показано, що дія IGF-1 на остеобласти сприяє утворенню і функціонуванню остеокластів. Цитокін не викликає остеогенного диференціювання стовбурових клітин, однак посилює функцію зрілих остеобластів [303]. Передача сигналів IGF-1 в остеобластах важлива для дозрівання остеобластів і здатності кістки піддаватися своєчасній мінералізації [348].

Рівні IGF-I в сироватці беруть участь в патогенезі таких захворювань, як діабет, серцево-судинні захворювання, рак і остеопороз [225]. Підвищення синтезу інсуліноподібного фактору росту є ранньою відповіддю кісткової тканини на механічне навантаження. Гіперсекреція IGF-1, викликана у трансгенних щурів, приводила до підвищеного остеогенезу у відповідь на механічне навантаження [315]. При відсутності навантаження на кістку введення IGF-1 не призводить до підвищеного остеогенезу. Пошкодження в гені IGF-1 остеобластів призводить до значного зниження остеогенезу у відповідь на механічне навантаження [259].

Поліморфізм, викликаний повторенням динуклеотида CA в Мікро, який знаходиться на 1 кілобаз вище від місця початку транскрипції IGF-I, призводить до зниження рівня IGF-I в сироватці. Деякі дослідники виявили, що це пов'язано з більш низькою масою тіла при народженні [176]. Поліморфізми в IGFBP-1 також були пов'язані з більш низьким індексом маси тіла і наявністю діабету 2 типу [237].

Роль цитокінів в остеоінтеграції при кістковій пластиці досліджена в експериментальній моделі на тваринах – спільне застосування IGF-1 та PDGF позитивно впливало на інтеграцію трансплантатів [330].

Схильність до довговічності зубних імплантатів складають складні адитивні і епістатичні взаємодії між генами колагену, ферментів металопротеїназ, тканинних факторів росту, фенотипічні ефекти яких в процесі остеоінтеграції можуть реалізуватися по-різному і порушуватися у пацієнтів при ЦД.

1.3 Профілактика ускладнень при ортопедичному лікуванні у пацієнтів з цукровим діабетом і пародонтитом

Для профілактики ускладнень при дентальній імплантації на фоні різної соматичної патології, включаючи ЦД, в літературі пропонуються різні заходи, починаючи від стабілізації рівня цукру в крові пацієнтів, вибору антибактеріальної терапії та закінчуючи використанням різних конструкцій протезів з наделастичних сплавів. У багатьох роботах підкреслюється, що, якщо лікувати гіперглікемію, підтримувати рівень глюкози, близький до нормального, і проводити антибактеріальну терапію, використовувати при протезуванні наделастичні сплави, то імплантати будуть успішно інтегруватися [86, 139, 158]. У багатьох роботах розглядаються питання профілактики генералізованого пародонтиту, як правило, супутнього ЦД, щонегативно впливає на процес інтеграції імплантатів.

При цукровому діабеті II типу відбувається два основних процеси, що ускладнюють процес остеоінтеграції при дентальній імплантації. Це порушення всмоктування кальцію і активація остеокластів, що резорбують кісткову тканину при гіперглікемії. Завдяки прийому препаратів, що регулюють вміст рівня цукру в крові, стало можливим нівелювати дані патологічні зміни [86].

В роботі [36] показано, що найбільш індиферентними для СОПР хворих на діабет є: з незнімних – безметалеві (цирконієві) протези, а з знімних – нейлонові. При протезуванні хворих на діабет знімними зубними протезами з використанням акрилової пластмаси необхідно забезпечити превентивне лікування СОПР і подальші профілактичні заходи по нейтралізації дії мономера.

В роботі [41] представлені особливості тканин порожнини рота у пацієнтів з цукровим діабетом 2-го типу в залежності від конструкції часткового знімного зубного протеза, що використовується при ортопедичному стоматологічному лікуванні. Огляд порожнини рота проводили до ортопедичного стоматологічного лікування, на етапах корекції зубних протезів та через 3 місяці після накладення зубних протезів. Аналізували запальні зміни слизової оболонки порожнини рота, пов'язані з побічною дією зубного протеза, а також запальні зміни тканин пародонту, рівень гігієни порожнини рота і терміни адаптації до зубних протезів обстежуваних пацієнтів. Були виявлені більш виражені ознаки запалення слизової оболонки протезного ложа і пародонту, порушення гігієни порожнини рота, а також збільшення термінів адаптації до протезів у пацієнтів, лікування яких виявлялося із застосуванням часткового знімного протезу з базисом з акрилу, в порівнянні з протезом з базисом з кобальтохромового сплаву.

В роботі [93] підкреслено, що дослідження, спрямовані на оптимізацію протоколів протезування пацієнтів із супутнім цукровим діабетом, залишаються надзвичайно актуальними, оскільки спрямовані не тільки на відновлення втрачених функціональних можливостей, а й істотне підвищення якості життя серед осіб з даною групою патології. Невирішеними залишаються питання впливу загальносоматичних захворювань, супутніх цукровому діабету, на прогноз дентальної імплантації у цих хворих. Водночас, не проведено досить досліджень, що стосуються тимчасового протезування осіб з даною патологією та його вплив на кінцевий успіх лікування. Наведені вище

спостереження дозволяють зробити висновки щодо модифікації класичних ортопедичних протоколів реабілітації адентичних пацієнтів із супутнім цукровим діабетом. В силу особливостей порушення мікроциркуляції і, відповідно, трофіки тканин слід рекомендувати подовжити час післяопераційного періоду до 6 місяців, з можливим продовженням стадії спокою. В рамках передопераційних заходів рекомендується спільне ведення і складання плану втручання з суміжним фахівцем-ендокринологом, і відповідна корекція метаболічного контролю діабету. Дослідження про вплив введення імуномодуляторів в курс передопераційної підготовки показують позитивний ефект даних препаратів на прогноз лікування. У зв'язку з підвищеним ризиком бактеріального інфікування області хірургічного втручання деякими авторами рекомендується призначення курсу антибіотикотерапії препаратами широкого спектру дії. До модифікації хірургічного протоколу слід віднести і контроль якості швів в післяопераційному періоді.

В роботі [92] проведено вивчення впливу імуноактивного препарату «Головата» на рівень циркулюючих імунних комплексів та їх фракційний склад у хворих на хронічний генералізований пародонтит, яким необхідне проведення дентальної імплантації. Встановлено, що застосування препарату «Головата» для імунокорекції хворих з цією патологією сприяє нормалізації загальної концентрації циркулюючих імунних комплексів і їх молекулярного складу, що свідчить про патогенетичну обґрунтованість його застосування з метою імунокорекції у хворих на хронічний генералізований пародонтит, яким необхідне проведення дентальної імплантації.

В роботі [85] наведені результати оцінки гігієнічного стану 60 пацієнтів з дентальними імплантатами у віці від 27 до 45 років, що проводилася за наступними індексами гігієни: Aproximal Plaque Index, індекс гігієни супраконструкції Большакова, Papilla Bleedeng Index зубів і імплантатів, Community Periodontal Index Treatment Needs. При аналізі оцінюваних показників виявлена необхідність проведення професійної гігієни сучасними

сонарним і аероабразивними апаратами 4 рази на рік, поповнення арсеналу засобів індивідуальної гігієни іригатором, а також необхідність диспансерного спостереження лікарями-пародонтологами пацієнтів з дентальними імплантатами.

В роботі [341] була проведена оцінка клінічного та мікробіологічного впливу рутинної гігієни порожнини рота з застосуванням зубної пасти з вмістом триклозану (сополімеру, що наноситься на зубні імплантати і природні зуби) в порівнянні з використанням контрольної зубної пасти з вмістом фториду. Показано, що застосування зубної пасти з вмістом 0,3% триклозану може покращувати догляд за зубними імплантатами, зменшуючи зубний наліт і запалення ясен при гінгівіті.

Індивідуальні засоби гігієни для порожнини рота необхідні кожному пацієнтові, особливо при наявності дентальних імплантатів. В роботі [137] показано, що гігієнічні комплекси на основі наносорбенту («Ентеросгель») забезпечують сорбційну, антибактеріальну, протизапальну, протинабрякову дію, перешкоджають фіксації бактерій, сорбують токсини і зрушені клітини епітелію, покращують стан ясен і слизової оболонки, забезпечують тривалий захист від нальоту і свіжість подиху, нормалізують гігієнічний стан порожнини рота. При цьому не відбувається пошкодження твердої тканини зуба і поверхні імплантату.

В експерименті на білих щурах лінії Вістар було показано, що внутрішньокісткова імплантація призводить до посилення процесів резорбції, пригнічення утворення нової кісткової тканини і вимагає обов'язкового проведення коригуючої профілактичної комплексної терапії. Комплексне застосування лікувального гелю «Апідент» може сприяти попередженню остеорезорбтивних процесів і стимулюванню остеорегенеративних процесів в щелепах при внутрішньокістковій імплантації. Гель «Апідент» локально має захисну дію на перебіг ранового процесу і сприяє загоєнню [56].

Результати, отримані при клінічних дослідженнях, свідчать про ефективність використання зубних паст з антибактеріальними і

протизапальними властивостями для профілактики розвитку периімплантиту і периімплантного мукозиту. Доведено, що використання зубної пасти з триклозаном і сополімером забезпечує стійкий антибактеріальний ефект на період не менше 12 годин, знижує прояв запалення і запобігає появі неприємного запаху з рота [15].

Дентальні імпланти потребують професійного гігієнічного догляду (один раз на 3-6 місяців), що здатне продовжити термін їх служби і перешкоджає виникненню периімплантиту, який спостерігається у 14,4% пацієнтів за 5 років після імплантації [84].

Гігієнічний догляд за порожниною рота за допомогою засобів лабораторії «Pierre Fabre Oral Care» є ефективним у пацієнтів після проведення хірургічного етапу дентальної імплантації. Застосування цих засобів дозволило скоротити в три рази кількість післяопераційних запальних ускладнень. Дані засоби із гігієнічного догляду за порожниною рота рекомендується використовувати після проведення імплантації з метою профілактики розвитку ранніх післяопераційних ускладнень [143].

На підставі експериментальних досліджень на щурах для зменшення резорбції кістки після дентальної імплантації у пацієнтів з остеопорозом A. Yaffe і співавт. пропонують місцеве використання бісфосфонатів [371]. В роботі [35] повідомляється, що призначення бісфосфонатів пацієнтам з остеопорозом дозволяє навіть всупереч даним літератури надавати безпосереднє навантаження на зубні імпланти. Наводяться також відомості про те, що застосування при дентальній імплантації бісфосфонатів останнього покоління (алендронат і ризендронат) ефективно і безпечно.

В роботі [35] авторами показана роль остеопластичних матеріалів, імплантованих в кістковий дефект, для створення інертної матриці і каркаса для остеогенних клітин і їх попередників, що призводить до ініціації регенерації кісткової тканини і її підтримки – процесу неоостеогенезу. Комплекс неколагенових білків, афінних до мінеральних і органічних інгредієнтів імплантатів (протеом тканини інженерної конструкції) забезпечує

остеоіндуктивність імплантату, хемотаксис, адгезію, проліферацію остеогенних клітин-попередників, що призводить до збільшення перспективи сприятливих результатів остеопластики у хворих зі зниженим регенераційним потенціалом. Гетерофазні ортофосфати кальцію і колагену першого типу є оптимальною композицією.

В експериментально-морфологічному дослідженні на 40 щурах була показана динаміка остеогенетического процесу при інокуляції аутогенних мезенхімальних стовбурових клітин з жирової тканини в простір між кістковим ауотрансплантатом з великогомілкової кістки і поверхнею нижньої щелепи. При цьому розвиток фіброзної або клітинно-волокнистої тканини, зазубринки країв кісткового трансплантата, дегенерація і декомпозиція пристінково розташованих клітин були значно нижче в порівнянні з контрольною групою. Інокульовані мезенхімальні стовбурові клітини мають остеогенетичний потенціал, утворюючи кісткову речовину *de novo* (фіброретикулярну кістку) [22].

В експериментах на собаках [5] було показано, що використання пористої форми Біосінталла-11 в порівнянні з гранулятом супроводжується активним вrostанням остеогенної тканини в пори при наявності мінімальних реактивно-резорбтивних проявів. Автори показали, що Біосінталл-11, маючи властивості високої біосумісності, викликає відповідну позитивну реакцію тканин реципієнта в процесі osteoінтеграції, що дозволяє рекомендувати його для використання в щелепно-лицевої хірургії при різних соматичних захворюваннях.

В роботі [160] на щурах досліджені регенераторні властивості раневого обсорбуючого покриття в умовах експериментального ЦД 2 типу. Вивчення репарації ран в порожнині рота, закритих колагеновою пластиною, у тварин на фоні цукрового діабету 2-го типу показало, що запальна реакція в ранах носить асептичний, посттравматичний характер і повністю стихає до 3-5 діб після операції. Пластина не викликає в тканинах гострого запалення і місцевої токсичної реакції. Колагенова пластина стимулює активацію фібробластичної

реакції і ангиогенез. Проведені експериментальні дослідження корелюють з даними клінічних спостережень, що показують, що як у пацієнтів без вираженої соматичної патології, так і у пацієнтів з цукровим діабетом 2-го типу при застосуванні колагенової пластини відзначається повна епітелізація поверхні рани на 19-21 добу після операції, що важливо для імплантології.

В роботі [107] зроблено висновок про те, що необхідний пошук нових способів профілактики і терапії післяопераційних ускладнень при дентальній імплантації, особливо на фоні різної соматички. Одним з таких способів є сучасна фітотерапія. Природні речовини фітопрепаратів в більшості випадків не виявляють алергічних властивостей, біогенетично близькі людському організму, легко втягуються в процеси тканинного обміну. Рослинні речовини мають активний і спрямований вплив і успішно себе проявили в медицині. Автори пропонують використовувати в якості сучасних фітопрепаратів пластини ЦМ-1, тонзінал для попередження ранніх післяопераційних ускладнень при дентальній імплантації, особливо на фоні різної соматички.

В роботі [145] для профілактики гнійно-запальних ускладнень у пацієнтів після проведення хірургічного етапу дентальної імплантації (що особливо важливо при наявності цукрового діабету) пропонується використовувати антимікробний препарат «Аксеф» (цефуроксим натрію і цефуроксим аксетил), представництво «Нобель Ілч». Фармакологічна група – цефалоспорини другого покоління. Препарат «Аксеф» (цефуроксим натрію) випускається для в/м або в/в ін'єкцій, препарат «Аксеф» (цефуроксим аксетил) випускається у вигляді таблеток. Діюча речовина – цефуроксим.

В роботі [1] було проведено дослідження на щурах залежності постестракційних ускладнень (зазвичай проводяться перед імплантацією) від ступеня тяжкості експериментального ЦД. Дослідження було проведено на 50 щурах самцях, віком 9-10 місяців, розподілених на дві експериментальні групи. Першу групу склали 20 здорових самців, яким видалили перший нижній моляр справа. Друга група – 30 щурів самців зі стрептозотоциновим діабетом, з екстракцією перших нижніх молярів праворуч на 21-й день ЦД.

Було показано, що постекстракційні ускладнення залежать від ступеня тяжкості цукрового діабету. Як ранні, так і пізні ускладнення, пов'язані з альвеолярної раною, частіше розвиваються при важкому ЦД, характеризуються тяжким перебігом та високою варіабельністю ускладнень (остеомієліт, флегмона, абсцес). Ускладнення перебігу основного захворювання і прогресування симптоматики ЦД відзначаються при важкому його перебігу, що супроводжується зниженням ваги щурів і підвищенням рівня глікемії. Виразність ацидозу, підвищення концентрацій креатиніну і сечовини не залежить від ступеня тяжкості патологічного процесу, але при цьому вносять свій внесок в погіршення стану тварини.

В роботі [12] був проведений аналіз вікових змін мінеральної щільності кісткової тканини у хворих на цукровий діабет похилого та старчого віку (жінки у постменопаузі). У хворих з ЦД 2 типу мала місце статистично достовірною кореляція рівня мінеральної щільності кісткової тканини та віку. Мінеральна щільність кісткової тканини найбільш інтенсивно знижувалася у хворих з віком при ЦД 2 типу, сягаючи мінімальних значень після 70 років.

Пародонтопатогенна флора, що розмножується при порушенні мікроциркуляції через травму, хірургічного втручання, при придбаних дефектах імунної системи призводить до розвитку інфекційно-запальних ускладнень. Застосування препарату «Тамер», що має потизапальну, імуномодулюючу, антиоксидантну властивості, сприятливо впливав на імунну систему пацієнта, зменшуючи інфекційно-запальні ускладнення після хірургічного втручання в порожнині рота, що особливо важливо при такій патології як ЦД [161].

Застосування природного адаптогенного препарату «Епсорін» (екстракту з пантів північного оленя) у хворих в комплексному лікуванні переломів нижньої щелепи запобігало зростанню процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) і активувало антиоксидантну систему, відновлювало обмінні процеси в клітинах, зменшувало порушення гемомікроциркуляції і гіпоксію, мало біостимулюючу і відновлюючу дію. В результаті зменшувалася

ймовірність розвитку ускладнень, в т.ч. остеомієліту, в післяопераційному періоді [152].

Фітопрепарати можна використовувати для профілактики і лікування післяопераційних ускладнень у стоматології після детальної імплантації, тому що вони біогенетично ближчі до організму людини на відміну від антибіотиків і антисептиків, легко вступають в обмінні процеси, мають цілеспрямований вплив, взаємодіють з ферментами, не викликають алергію, позбавлені негативного впливу на імунний статус пацієнта, що призводить до сприятливого результату операції [38].

Робота [34] присвячена вивченню можливості нормалізації процесів остеогенезу в порожнині рота при зниженій неспецифічній резистентності в процесі дентальної імплантації з допомогою поєданого використання різних препаратів і фізичних факторів впливу. Проведені спектрофотокolorиметричні дослідження показали високу ефективність розробленої системи профілактики ускладнень при дентальній імплантації.

Підтримуюче пародонтологічне лікування є невід'ємною частиною загальної пародонтологічної терапії і одним з важливих факторів, які визначають успіх ортопедичного лікування, що особливо важливо при такій соматичній патології як цукровий діабет.

В роботі [102] пропонується використання ультразвукового приладу «Вектор» з набором спеціальних вуглецевих насадок «Re-Call», що дозволяє уникнути реінфікування і надійно запобігти розвитку періімплантиту при соматичних захворюваннях.

В роботі [82] наведені результати клінічних та лабораторних досліджень за участю пацієнтів з різною соматикою після установки імплантатів, які отримували додаткове лікування апаратом КВЧ-ІК «Тріомед». Показано, що перед- і післяопераційний КВЧ-вплив є ефективним засобом профілактики розвитку інфекційно-запальних ускладнень в дентальній імплантології, що особливо важливо при ЦД.

Клінічно доведено підвищення ефективності профілактики ускладнень і корекції процесів кісткового метаболізму при дентальній імплантації у пацієнтів зі зниженою специфічною резистентністю, яке полягає в використанні пре- і пробіотиків на стадії підготовки до імплантації, а також цинксульфатної, лазерної, і естрогенної (при необхідності) терапії після операції [98].

Ефективність використання комплексної профілактики і лікування преімплантизму шляхом поєднаної медикаментозної («Цинктерал» і «Кальцій-Д3-нікомед») і лазерної терапії доведено в експерименті на щурах лінії Вістар. При цьому спостерігалася нормалізація біохімічних показників, зниження резорбції кісткової тканини [99].

Проведене спектроколориметричне дослідження твердих тканин зубів, тканин пародонту і функціональних реакцій в мікрокапілярному руслі ясен при імплантологічному втручанні на фоні хронічного генералізованого пародонтиту [34] показало, що застосування поєднаної комплексної профілактики ускладнень при дентальній імплантації дозволяє прискорити нормалізацію порушених функціональних реакцій в порожнині рота, які викликані процесами ремінералізації твердих тканин зубів, зміною кровотоку в мікрокапілярному руслі слизової ясен і їх бар'єрної проникності.

Результативність та безпека дентальної імплантації визначається тактикою проведення профілактичних заходів в передімплантаційному періоді. Аналіз клінічної характеристики дентальної імплантації, преморбідного фону пацієнтів з вторинною адентією, структурою нозологій, а також соматичними ускладненнями в постімплантаційному періоді, вказує на тенденцію розширення переліку необхідних профілактичних заходів перед імплантацією [162].

Показано, що ортопедичне лікування при дисплазії сполучної тканини, що характерна при ЦД, при відсутності додаткового комплексного лікування призводить до загострення наявних запальних захворювань пародонту, тобто перед початком протезування пацієнта має пролікувати терапевт [9].

Для підтвердження гіпотези про те, що дезінтеграція імплантатів є наслідком наявних в організмі пацієнтів порушень периферичного кровотоку, вегетативного дисбалансу і змін кісткової тканини, були виконані об'єктивні дослідження у пацієнтів із загальною соматичною патологією. Встановлено ідентичність і односпрямованість патологічних змін. На підставі висунутої і підтвердженої гіпотези запропоновано комплексний підхід до лікування пацієнтів даного профілю [90].

В роботі [55] показано, що включення гелю «Апідент» в комплексне лікування при дентальній імплантації значно поліпшило стан слизової оболонки в посттравматичний період у експериментальних тварин, що проявлялося в зниженні гіперемії, набряку та прискоренні процесу загоєння поверхні рани. Ефективність гелю «Апідент» обумовлена нормалізуючим впливом його на процеси ПОЛ, запалення і активацією захисних систем порожнини рота. Результати досліджень дають підставу рекомендувати локальне застосування гелю «Апідент» для запобігання запальних процесів при дентальній імплантації.

В роботі [138] підкреслено, що лікування генералізованого пародонтиту при дентальній імплантації вимагає комплексного підходу, який включає п'ять основних напрямків лікувальних заходів: терапія етіотропна (усунення факторів ризику і антибактеріальні засоби), патогенетична (розрив патологічного ланцюга запально-деструктивних реакцій і пригнічення росту грануляційної тканини), симптоматична (знеболювання і усунення гіперестезій, жарознижуючі); замісна (заміщення порушених функцій), реабілітаційна (відновлення порушених структур функцій пародонту). Застосування нестероїдних протизапальних засобів «Найза» («Німесулід») в комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит, яким проводились кістково-пластичні операції і дентальна імплантація, забезпечує тривалу протизапальну дію, виражений знеболюючий ефект, нормальну переносимість операції пацієнтами незалежно від віку та об'єму проведеного оперативного втручання.

Існує ряд причин, що перешкоджають дентальній імплантації, головною з яких є відсутність необхідної кількості кісткової тканини альвеолярних відростків для якісної установки дентальних імплантів, що характерно при ЦД. Одним з варіантів вирішення завдання відновлення кістки може стати практика використання подрібнених демінералізованих кісткових алоімплантів (ДКІ), виготовлених за технологією тканинного банку ЦІТО. Автори [75] провели аналіз роботи з подрібненим демінералізованим кістковим матриксом в ході підготовки і при проведенні дентальної імплантації, а також оцінку віддалених результатів використання подрібнених ДКІ у хворих з кістковою патологією в області лицьового черепа.

В результаті проведеного експерименту на 40 білих щурах-самцях, було виявлено, що експериментальна імплантація з використанням нікелідатитану призводить до суттєвих змін ультраструктурної організації ендотеліоцитів кровоносних капілярів. Фітомінеральний комплекс є джерелом біологічно активних сполук, які мають метаболічний ефект, що призводить до швидкого відновлення цитоплазматичних структур, що сприяють ефективній пластичній та енергетичній діяльності клітин. Зміна стану ультраструктурної організації ендотеліоцитів кровоносних капілярів ясен вказує на можливість ефективного, повноцінного гістогематичного і лімфатичного обміну, що важливо при цукровому діабеті [79].

Відомо, що в ранні терміни після проведеного лікування з використанням штучних опор змінюється метаболізм кісткової тканини. У дослідженні [142] в ролі маркерів метаболізму були вибрані кістковий ізофермент лужної фосфатази і маркери апоптозу - Trail, SCD 95, Caspase 1 / ICE в крові пацієнтів в різні терміни після дентальної імплантації. Вміст маркерів в крові буде залежати від співвідношення процесів резорбції і утворення кісткової тканини, які в свою чергу, можуть змінюватися при наявності супутньої патології кісткової тканини (остеопороз), що має істотну роль при ЦД.

В роботі [37] підкреслено, що проблема пошуку оптимальних технологій імплантації, а також методів профілактики і лікування ускладнень, особливо при наявності соматичної патології, є актуальною проблемою і включає в себе не тільки розробку нових прийомів хірургічних втручань, використання додаткових профілактичних заходів під час протезування, а й створення нових систем імплантатів, які повністю відповідають вимогам профілактики запальних захворювань в періімплантатній зоні.

В роботі [24] показано, що пацієнтам при остеопорозі, який супроводжує ЦД, в післяопераційному періоді слід застосовувати фізіологічні дози вітаміну Д, кальцію, дотримуватися збалансованої дієти, кинути палити, слід збільшити період від установки імплантату до фіксації ортопедичної конструкції.

В роботі [144] показана ефективність антибактеріального і знеболюючого препарату «Трахісан» при профілактиці постімплантаційних запальних ускладнень, що особливо актуально при ЦД.

В роботі [23] для профілактики запальних ускладнень післядентальної імплантації у пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом пропонується використовувати Plasmolifting для інгібування процесів резорбції і стимулювання остеогенеза за рахунок впливу фактора росту тромбоцитів, що містяться в тромбоцитарній аутологічній плазмі, на фібробласти і остеобласти.

В описі винаходу до патенту [105] пропонується для ефективного лікування захворювань пародонту при ЦД 2 типу, що особливо важливо при хірургічному втручанні (установка імплантатів), використовувати протизапальний препарат «Лімонтар», що містить бурштинову кислоту, лимонну кислоту і стеарат магнію. Показано взаємозв'язок між ЦД і захворюваннями тканин пародонта.

В роботі [10] підкреслено, що тільки комплексний підхід до існуючої проблеми (ускладнення дентальної імплантації) дозволяє на даний час знайти перспективне лікування. Особливо важливий такий підхід при наявності такої складної супутньої патології як ЦД.

Висновки до розділу 1:

- Незважаючи на накопичений науковий і клінічний досвід в цій області, досі мають місце випадки відторгнення імплантатів, особливо при наявності у пацієнтів різної соматичної патології.
- Аналіз структурно-функціонального стану кісткової тканини пацієнтів із цукровим діабетом, які потребували дентальної імплантації, показав, що тільки у 32% денситометричні параметри (індекс щільності кісткової тканини, швидкість поширення і широкосмугове ослаблення ультразвуку) відповідали віковій нормі. У 68% пацієнтів із цукровим діабетом спостерігалися порушення структурно-функціональних особливостей кісткової тканини, з яких 79,41% складала остеопенія різного ступеня вираженості, а 20,59 % – остеопороз, що ускладнює ортопедичне лікування.
- Для поліпшення клінічного результату або розробки цільової терапії при дентальній імплантації важливо розуміти молекулярні механізми, які призводять до відторгнення зубного імплантату.
- До числа найбільш значущих при зубощелепних аномаліях (ЗЩА) соматичних захворювань відноситься цукровий діабет і супутня йому патологія пародонта.
- Успіх імплантації багато в чому визначається якістю попередньої підготовки. Особливу увагу необхідно приділяти пацієнтам з різними соматичними захворюваннями, в тому числі, із цукровим діабетом.
- Використання зубних імплантатів у пацієнтів з ЦД залишається спірним, тому що є дані про загоєння кістки навколо імплантатів.
- У пацієнтів з цукровим діабетом спостерігається зниження активності остеобластів, як наслідок, зменшення швидкості ремоделювання старої кістки.

- В огляді літератури, опублікованій за останні 10 років, показник виживання імплантатів у пацієнтів з діабетом через рік після установки коливається від 85,6% до 94,6%.
- Показано, що у пацієнтів із цукровим діабетом більшість збоїв при дентальній імплантації відбувається після операції на другій стадії і протягом першого року функціонального навантаження, що вказує на залучення мікросудин, які впливають на відмови імплантатів.
- Передопераційна підготовка при дентальній імплантації має включати лабораторні дослідження, спрямовані на оцінку генетичних факторів, які впливають на остеоінтеграцію і можливу довговічність зубних імплантатів.
- Мутації в гені COL1A1 і COL1A2 можуть порушувати молекулу колагену. Такі зміни в колагенових фібрилах можуть впливати на утворення і стабільність кісткових мінералів. Дефекти будови кісткової тканини при порушеному співвідношенні варіантів ланцюгів колагену можуть сприяти більш інтенсивному руйнуванню кістки і втраті зуба.
- Показано, що генетичну основу схильності до довговічності зубних імплантатів складають складні адитивні і епістатичні взаємодії між генами колагену, ферментами металопротеїназ, тканинних факторів росту, фенотипічні ефекти яких в процесі остеоінтеграції можуть реалізуватися по-різному і порушуватися у пацієнтів при ЦД.
- В експерименті на білих щурах лінії Вістар було показано, що внутрішньокісткова імплантація призводить до потенціювання процесів резорбції, пригнічення утворення нової кісткової тканини і вимагає обов'язкового проведення коригуючої профілактичної комплексної терапії.
- Підтримуюче пародонтологічне лікування є невід'ємною частиною загальної пародонтологічної терапії і одним з важливих факторів, які визначають успіх ортопедичного лікування, що особливо важливо при такій соматичній патології як цукровий діабет.

– У ряді робіт підкреслено, що тільки комплексний підхід до проблеми ускладнень дентальної імплантації при наявності складної соматичної патології дозволяє на даний час знайти перспективне рішення.

– Дослідження, спрямовані на оптимізацію протоколів протезування пацієнтів із супутнім цукровим діабетом, залишаються надзвичайно актуальними.

РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Обґрунтування мети дослідження

Обґрунтуванням мети роботи була наявність високої поширеності у дорослих пацієнтів, що потребують ортопедичного лікування, такої складної соматичної патології як цукровий діабет.

Для розробки ефективних лікувально-профілактичних заходів супроводу ортопедичного лікування таких пацієнтів необхідно було провести експериментальні дослідження щодо впливу моделювання ЦД у щурів на біохімічні показники крові, тканин пародонту, кісткових тканин при застосуванні вітамінних та мікроелементних комплексів, детоксикантів, антиоксидантів, препаратів, що регулюють мікробіоценоз та кістковий метаболізм. Крім того, необхідно було провести морфологічні дослідження кісткових порушень у щурів при моделюванні ортопедичного лікування на фоні ЦД та зміни в них при застосуванні лікувально-профілактичного комплексу.

На підставі проведених експериментальних досліджень на щурах, клінічних та клініко-лабораторних (генетичних, епігенетичних, біохімічних, біофізичних) досліджень у пацієнтів з ЦД, направлених на ортопедичне лікування, була розроблена та апробована в клініці ефективна, патогенетично обґрунтована схема профілактики ускладнень при імплантологічному лікуванні пацієнтів на фоні ЦД.

2.2 Дизайн клінічних та експериментальних досліджень.

В даному дослідженні брали участь пацієнти віком 30-55 років з ЦД 2 типу, спрямовані на дентальну імплантацію за їх наполяганням (основна група – 29 осіб, група порівняння – 24 особи). Встановлювалися як окремі імплантати в разі малих дефектів зубних рядів, так і мостовидні конструкції, в

основному, з опорою на 2-3 імплантату. Контрольний огляд проводився через 3, 6 місяців та 1 рік. Спостереження пацієнтів проводилося 2-3 роки.

У разі видалення зуба проводилася одномоментна ендосальна імплантація, при якій конструкція встановлювалася в лунку відразу, і слизова оболонка зашивалася тервалом із зигзагоподібними швами. У разі відсутності зуба під анестезією проводилося формування клаптя, впровадження фікстури в кістку і ушивання рани. Ця частина імплантату була, таким чином, ізольованою від середовища порожнини рота. Через 7 днів відбувалося зняття швів. У період вживлення імплантату (3-6 місяців) розвивалася остеоінтеграція. Після цього періоду робили контрольну рентгенограму, здійснювали фіксацію формувача ясен (через 12 днів він видалявся). До фікстур прикріплювалася Наддесневої частина (абатмент) і виготовлявся зубний протез. З метою зіставлення результатів в даному дослідженні використовувалися тільки ендосальні системи «Біогоризонт».

Ортопедичне лікування з використанням імплантатів пацієнтів основної групи крім базової терапії супроводжувалося застосуванням ЛПК, що включав комплекс біологічно активних речовин (табл. 2.1). Перше використання ЛПК проводилося перед операцією імплантації. Всі препарати застосовувалися за інструкцією. Пацієнти групи порівняння отримували тільки базову терапію.

Таблиця 2.1

Лікувально-профілактичний комплекс супроводу ортопедичного лікування пацієнтів з цукровим діабетом

Препарати	Дозування	Терміни застосування	Механізм дії
«ПОІС» Комплекс біологічно активних речовин рослинного походження («Amma Life Sciences Private Limited», Індія)	1 кап. 2 р. на добу, за 30 хв. до прийому їжі (4 тижня)	2 рази на рік	Регулює вуглеводний обмін, рівень глюкози в крові

Фітоконцентрат «Імунікум» (21 компонент) («Анастасія», Україна)	2 рази на день по 30 капель на 1 ст.л. води за 30 хв. до прийому їжі (3 тижні)	3 рази на рік	Адаптогенний, що підсилює імунітет, резистентність в порожнині рота
«Селен + цинк актив» Органічний мінеральний комплекс комбінованої антиоксидантної дії (ООО «Еліт-фарм», Україна)	1 табл. підчас прийому їжі, 3-4 тижні	2 рази на рік	Антиоксидантний, остеотропний
«Екстракт гінкго білоба і виноградних кісточок» аплікації місцево («Медагропром», Україна)	15 днів	1 раз на 3 місяці (4 р. на рік)	Регулює мікробіоценоз, адаптоген, антиоксидант, поліпшує кровообіг, зменшує запалення
«Алфавіт» (комплекс вітамінів та мікроелементів)	1 табл. 3 р. на добу, 20 днів	2 рази на рік впродовж 20 днів	Підсилює АОС, нормалізує кістковий метаболізм, підвищує неспецифічну резистентність

В експерименті була проведена оцінка біохімічних показників сироватки крові, тканин пародонту та кісткових тканин щурів при моделюванні цукрового діабету 2 типу, встановлення імплантатів та проведення лікувально-профілактичних заходів. В експерименті використовували 24 самки білих щурів лінії Вістар стадного розведення у віці 10 місяців, масою 230 ± 38 г. При роботі з тваринами керувалися Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009 р) з урахуванням правил

Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях («European Convention», Страсбург, 1986). Тварини були розподілені на 4 групи по 6 щурів в кожній:

- 1 - інтактні,
- 2 - на ЦД 2 типу,
- 3 - ЦД 2 типу + установка імплантатів,
- 4 - на ЦД 2 типу + установка імплантатів + ЛПК.

Відтворення цукрового діабету 2 типу (ЦД 2 типу) у щурів 2, 3 і 4 груп здійснювали за допомогою внутрішньом'язового введення протамін сульфату («Merck», Німеччина) в дозі 18 мг / кг щодня двічі на день протягом 5 днів і після двох днів перерви - ще протягом наступних 5 днів [151].

Профілактику комплексом препаратів 4-й групі щурів починали проводити з першого дня моделювання ЦД 2 типу. ЛПК, що вводиться тваринам, включав з розрахунку на 1 кг маси тіла: комплекс біологічно активних речовин рослинного походження «поїсом ультра» (150 мг / кг), який регулює вуглеводний обмін; фітоконцентрати «Імунікум» (5 крапель / кг) - адаптоген, що підсилює імунітет і резистентність в порожнині рота; «Селен + Цинк актив» (25 мг / кг - 0,9 мг / кг цинку і 4,5 мкг / кг селену) - препарат антиоксидантів і остеотропної характеру дії; «Алфавіт» - вітамінно-мінеральний комплекс, що нормалізує кістковий метаболізм і підвищує неспецифічну резистентність. Місцево у вигляді зрошення використовували «Екстракт гінкго білоба і виноградних кісточок», який регулює мікробіоценоз, поліпшує кровообіг в яснах і зменшує запалення (1/10 з водою). Зрошення порожнини рота щурів проводилося 1 раз на добу вранці за 30 хв. до годування.

Всім тваринам дослідних груп під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) фіксували імплантат. За допомогою фігурного бору діаметром 1 мм на верхній щелепі в точці на відстані 1,5 мм від молярів із заходом на акулову кістка на 1-1,5 мм, робили канал глибиною 2 мм під кутом 1200 к площині молярів і

вкручували імплантат діаметром 1, 2 мм і довжиною 4 мм (використовується в ортодонтії як анкера).

Тварин виводили з експерименту також під тіопенталовим наркозом (40мг/кг) через 2 тижні після установки імплантатів (або 4 тижні від початку експерименту і моделювання ЦД 2 типу). Загальна тривалість експерименту склала 28 днів.

Для дослідження збирали кров для отримання сироватки крові, яку до дослідження зберігали при -30°C . У сироватці крові проводили визначення рівня глюкози [21] вмісту малонового діальдегіду (МДА), активності каталази, еластази, уреаз, лізоциму [67].

Крім того, була проведена оцінку впливу моделювання цукрового діабету 2 типу та фіксації імплантатів на біохімічні показники тканин пародонта щурів. Для дослідження вичленяли ясна тварин і зберігали їх при температурі -30°C . З тканин готували гомогенат з розрахунку 20-50 мг / мл 0,05 М трис-НСІ-буфера рН 7,5. Для біохімічних досліджень використовували супернатант, що отримується після центрифугування гомогенатів при 2500 g протягом 15 хвилин при $+4^{\circ}\text{C}$. У яснах щурів проводили дослідження активності еластази, уреаз, лізоциму, каталази, вмісту гіалуронової кислоти і ступеня дисбіозу, рівня малонового діальдегіду (МДА) і антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПИ).

Дентальна імплантація посилює патологічний стан пародонту, що розвивається при цукровому діабеті. Причиною патологічного стану в пародонті при цьому є дисбіоз, що приводить до розвитку запалення і демінералізації кісткової тканини [72, 73]. Для профілактики і усунення дисбіозу використовують антидисбіотичні засоби, що розрізняються за механізмом свого фармакологічної дії [70]. Серед АДЗ особливо виділяються пребіотики - речовини, що забезпечують харчування пробіотичних бактерій [65] і антиоксиданти, що мають здатністю попереджати руйнівну дію на клітинні мембрани і гістогематичні бар'єри вільних радикалів, що утворюються з них [71, 87]. В експерименті нами були використані наступні

АДЗ: інулін з коренів цикорію (Consuora Group Waxoing S. A., Бельгія), кверцетин виробництва фірми «Merck» (ФРН) (вміст основної речовини 99,6%) і цитрат кальцію (виробництва КНР). Композиція цих АДЗ складалася з кверцетину - 1,0%, інуліну - 49% і цитрату кальцію - 50%. Після подрібнення і ретельного змішування композиція вводилася до складу 4% гелю карбоксиметилцелюлози натрієвої солі. Експерименти по АДЗ були проведені на 24 білих щурах-самках лінії Вістар (10 міс; масою 200 ± 13 г), розподілених на 4 групи: 1-я - інтактні - 7 щурів, 2-я - цукровий діабет 2-го типу (ЦД2) - 7 щурів, 3-тя - ЦД2 + імпланти - 5 щурів і 4-я - ЦД2 + імпланти + гель з композицією АДЗ по 0,3 мл на ясна щодня за 30 хв до годування. ЦД 2 типу в даному експерименті викликали у щурів за допомогою протаміну сульфату, який вводили щодня внутрішньом'язово протягом 2 тижнів в дозі 18 мг / кг [151]. Установку імплантів здійснювали на 7-й день досвіду [169]. Евтаназію тварин виконували на 21-й день досвіду під тіопенталовим наркозом (20 мг / кг) шляхом тотального кровопускання з серця. Вичленили ясна і виділяли кісткову тканину альвеолярного відростка нижньої щелепи.

Крім того, була проведена морфологічна оцінка стану тканин пародонта щурів, в першу чергу, кісткових тканин, при моделюванні ЦД та ортопедичного лікування на фоні проведення відповідних лікувально-профілактичних заходів. Забарвлення гематоксиліном і еозином використовувалася в даному випадку для вивчення стану структур тканин ротової порожнини, мікроархітекtonіки тканин, визначення особливостей клітинного складу, взаєморасположення різних клітин, волокон, васкуляризації тканини. Крім того, даний спосіб забарвлення допомагає ідентифікувати не тільки кількісний склад клітин, особливості їх локації, а й якість їх. Забарвлення за ван Гизону використовувалася для виявлення особливостей будови елементів сполучної тканини, визначення особливостей патологічного процесу. З цією ж метою використовувалася модифікована забарвлення за Малорі, що дозволяє визначити взаєморозташування колагенових, еластичних і ретикулярних волокон і міжклітинної речовини.

Забарвлення за Рего проводилося для виявлення зон ішемії, що важливо для розуміння особливостей васкуляризації. Імуногістохімічне дослідження проводилося постановкою непрямой імунопероксидазної реакції з моноклональними антитілами до VEGF (моноклон, фактор росту ендотелію судин), VAX (моноклон, активатор апоптозу) фірми Thermo scientific. Реакція візуалізувалася за допомогою набору UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen (Thermo scientific) з дофарбовуванням ядер гематоксиліном Майєра. Мікропрепарати вивчалися за допомогою мікроскопа Olympus BX-41 "з об'єктивами x4, x100, x200, x400, результати піддавалися подальшій обробці програмою" Olympus DP-soft version 3.2 ". Для кожного мікропрепарату морфометрична обробка проводилася на 30 полях зору. Ступінь експресії рецепторів VEGF і VAX оцінювали напівкількісним методом, вважаючи реакцію в 1 бал негативною, 2 бали – слабкопозитивною (1% <n <10%), 3 бали – середньопозитивною (11% <n <20%) і 4 бали – сильнопозитивною (n>21 %).

У генетичних дослідженнях було обстежено 28 осіб з МС і ЦД, спрямованих на ортопедичне і ортодонтичне лікування. Виділення ДНК з клітин букального епітелію проводили за модифікованою методикою з Chelex [364]. У епендорф до апплікатору із зішкрібком епітеліальних клітин вносили 200 мкл 5% розчину Chelex 100 в стерильній дистильованій воді (Chelex в натрієвої формі, 100-200 mesh, Bio-Rad). Інкубували при 56 °С 30 хв з постійним перемішуванням на термошейкер. Потім інкубацію проводили при 96°С протягом 8 хв, періодично струшуючи. Після інкубації центрифугували (на центрифусі Eppendorf Centrifuge 5424) при 12 000 g 3хв. Концентрацію і чистоту препарату ДНК визначали на спектрофотометрі (Nanophotometr, Implen), відібравши аліквоту 5 мкл безпосередньо з пробірки з розчином ДНК. Для полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) відбирали 5 мкл супернатанта. Алельні варіанти генів PON1 Gln192Arg, ApoE Leu2Pro, VEGF A, C634G, TGF T869 C. оцінювали методом алель ПЛР. Ампліфікацію досліджуваної ділянки гена проводили паралельно в двох епендорфах для

нормального і мутантного варіанта гена в 20 мкл буферного розчину і 100 нм кожного олігонуклеотидного праймера (набори «SNP-експрес-ЕФ» НПФ «Літех», Росія), 100-150нг ДНК. В якості негативного контрольного зразка вносили розчинник в обсязі 5 мкл в обидва типи реакційної суміші. Визначення олігонуклеотидних поліморфізмів генів VDR T352C rs10735810 і COL1A G1997Trs1107946 проводили методом ПЛР в реальному часі наборами «SNP-Скрін» (НПК «Сінтрол», Росія). Поліморфізм гена eNos3 4A / 4B (делеція 27 пар нуклеотидів) визначали методом ПЛР з відповідними праймерами (4b-210, 4a-183, 4b / a-210, 183). Ампліфікацію проводили на термоциклері CFX96 (Bio-Rad). Умови були наступними: початкова денатурація протягом 5 хв при 94 ° С, (20 сек 94 ° С, 30 сек 64 ° С, 40 сек 72 ° С) 35 циклів. Фракціонування продуктів ампліфікації проводили в горизонтальному 2% агарозному гелі, приготованому на одноразовому трис-боратному буфері (1xTBE), при напрузі 100В протягом 45 хвилин. Маркер молекулярного веса- ДНК рUC19: Msp1. Агарозний гель фарбували бромистим етидієм і візуалізували у прохідному ультрафіолетовому світлі. При визначенні олігонуклеотидних поліморфізмів методом ПЛР в реальному часі окремо детектували продукти ПЛР-РВ на двох каналах флуоресценції FAM і Hex. Результати реакції на двох каналах дозволяють одночасно визначити присутність кожного з алелів досліджуваного поліморфізму.

Генетичну основу схильності до довговічності зубних імплантатів складають складні взаємодії між генами колагену, ферментами металопротеїназ і тканинними інгібіторами, фенотипічні ефекти яких в процесі остеоінтеграції можуть реалізуватися по-різному у пацієнтів. Було проведено також вивчення генетичного поліморфізму генів Col1A1-1997G / T, MMP1-1607insG, MMP9 A-8202G, TIMP1C536T у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування з використанням дентальних імплантатів.

Крім того, було проведено вивчення генетичного поліморфізму генів трансформуючого фактора росту TGF- β 1 T869C і інсулінових факторів росту

IGF-1 2716G / A, IGF-2 3323 G / A у пацієнтів з діабетом 2 типу, які потребують ортопедичного лікування з використанням дентальних імплантатів, що має важливе значення для розробки стратегії прогнозування та превентивної терапії успішної остеоінтеграції у пацієнтів з наявністю ЦД 2 типу.

Для оцінки прогресії метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу при дентальній імплантації було проведено аналіз аберантного метилювання LINE1. Бісульфітну обробку виділеної ДНК з концентрацією 1 мкг/мл проводили за допомогою набору «EpiTect Bisulfite Kit» (Qiagen). ДНК ампліфікували методом ПЛР з використанням HotStarTaq DNA Polymerase (QIAGEN), ПЛР-буфера, суміші dNTP (Fermentas) і специфічних праймерів за програмою: початкова денатурація 95⁰С – 15 хв., денатурація 95⁰С – 30 сек., отжиг праймерів 52⁰С – 30 сек., елонгація 72⁰С – 30 сек., 39 циклів, фінальна елонгація 72⁰С – 10 хв.

У біохімічних дослідженнях в клініці проводилася оцінка показників запалення і антиоксидантного захисту в ротовій рідині хворих на ЦД 2 типу в процесі комплексного ортопедичного лікування. При цьому на різних етапах лікування оцінювалися активність еластази, каталази, вміст малонового діальдегіду, антиоксидантно-прооксидантний індекс [7, 21, 66], активність уреаз, лізоциму і ступеня дисбіозу [21, 69]. Крім того, проводилася оцінка стану мікробіоценозу в порожнині рота і впливу на нього ЛПК на різних етапах лікування, а також обмінних процесів в організмі. При цьому в ротовій рідині пацієнтів оцінювалися на різних етапах лікування рівень тригліцеридів, вміст холестерину і глюкози [21].

У біофізичних дослідженнях вивчався спектроколориметричним методом стан тканин пародонта (ступінь запалення) і його мікрокапілярного русла до і після жувального навантаження (ЖН) у пацієнтів з ЦД 2 типу в процесі комплексного ортопедичного лікування з використанням імплантатів [132]. Крім того, в процесі ортопедичного лікування була проведена оцінка основних показників жирової маси тіла і денситометрических показників якості кістки у пацієнтів з ЦД 2 типу [133].

2.3 Методи дослідження

2.3.1 Клінічні та клініко-лабораторні методи дослідження

Для оцінки стану твердих тканин зубів використовували індекси КПВз, КПВп і їх структура (карієс, пломба, видалення, ускладнений карієс).

Для оцінки стану пародонта і слизової оболонки порожнини рота застосовували [159]:

- папілярно-маргінально-альвеолярний індекс РМА% для оцінки вираженості запальних змін пародонта. Індекс РМА % розраховують за формулою: $РМА = (сума\ балів / 3 \times число\ зубів) \times 100 \%$; (0% – норма, до 30% – легкий ступінь тяжкості, 31-60 % – середній ступінь тяжкості, 61% і вище – важкий ступінь тяжкості);

- кровоточивість ясен (індекс Mulleman) визначали за допомогою пародонтального зонда **Error! Reference source not found.**;

- рівень гігієни порожнини рота оцінювали за допомогою індексів гігієни порожнини рота Silness-Loe і Stallard.

Потреба в лікувально-профілактичних заходах при захворюваннях пародонта визначали, керуючись принципами ВООЗ.

Клінічна оцінка ефективності комплексної профілактики і лікування пародонта проводилася в початковому стані, через 6 місяців, 12 місяців і 24 місяці.

В клініці на різних етапах ортопедичного лікування оцінювались в ротовій рідині пацієнтів з ЦД активність еластази [7, 21, 66], каталази, уреазу [21, 69], лізоциму [21, 69], вміст МДА [7, 21, 66], холестерину [21], глюкози [21], зміни ступеня дисбіозу [21, 69], рівня тригліцеридів [21], антиоксидантно-прооксидантний індекс [7, 21, 66].

Рентгенографічним методом (панорамна рентгенографія) визначались процеси резорбції кісткових тканин, структури та стану їх в області позиціонування імплантату, його остео- і дезінтеграція.

2.3.2 Експериментальні методи дослідження

Надосадову рідину гомогенатів щурів отримували шляхом центрифугування в центрифугі РС-6 протягом 15 хвилин при 3000 об/хв при температурі + 4°C. Стан сполучної тканини щурів оцінювали за вмістом оксипроліну (пов'язаного, вільного і загального), глікозаміногліканів в тканинах пародонта [66]. У сироватці крові і тканинах щурів визначали біохімічні показники: вміст тригліцеридів, загального холестерину, ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), глюкози, сечової кислоти, гіалуронової кислоти, кальцію, фосфору, магнію, сіалових кислот, активність аланінтрансамінази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної і кислої фосфатази (ЛФ і КФ) уніфікованими методами, використовуючи комерційні набори реактивів виробництва DAC-SpectroMed (Молдова), Felicit (Україна), Biolatest (Чехія).

Рівень процесів перекисного окислення ліпідів визначали за вмістом малонового діальдегіду тіобарбітуровим методом [66]. Стан антиоксидантної системи (АОС) оцінювали за активністю глутатіон-пероксидази (ГПО) [135] і каталази [54]. Активність еластази визначали методом [68].

2.3.4 Морфологічні методи дослідження

При морфологічних дослідженнях оцінювалися структурні зміни в кістковій тканині альвеолярного відростка щурів, пародонті і його мікрокапілярному руслі.

Після виведення тварин з експерименту тканини пародонту і тверді тканини зуба фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну на 72 години, після чого протягом 24 годин зразки промивали в проточній воді. Після проведення вирізки матеріал піддавався декальцинації (при наявності твердих

тканин) або в рутинну проводку. Потім виготовляли зрізи товщиною 5×10^{-6} м, які фарбували гематоксиліном і еозином, за ван Гизоном, за Малорі, за Рего [136]. Отримані мікропрепарати вивчали на мікроскопі "Olympus BX-41" з об'єктивами $\times 4$, $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$ і з подальшою обробкою в програмі "Olympus DP-soft version 3.2", за допомогою якої виконували морфометричне дослідження. Отримані дані оброблялися статистично.

2.3.5 Біохімічні методи дослідження

Дослідження проводились в ротовій рідині пацієнтів, сироватці крові та гомогенатах тканин тварин.

Активність еластази оцінювали за ступенем гідролізу синтетичного субстрату N-t-BOC-L-alanine-p-nitrophenyl ester (BOC) («Sigma», USA) за методом Visser. Під дією еластази від субстрату відщеплюється п-нітрофенол жовтого забарвлення, інтенсивність якого пропорційна активності еластази.

Реактиви:

- 0,05 М фосфатний буфер, рН 6,5.
- Субстрат готували безпосередньо перед вживанням: 3,1 мг BOC розчиняють в 1 мл ацетонітрилу.
- Калібрувальні розчини п-нітрофенолу («Sigma», USA).

У скляні пробірки вносили по 1,9 мл 0,05 М фосфатного буфера, додавали 1 мл ротової рідини або гомогенату тканини. Пробірки поміщали на водяну баню з температурою $+ 25$ °С на 10-15 хв. Після цього в пробірку скляною піпеткою вносили 0,1 мл розчину субстрату BOC, швидко перемішували і вимірювали екстинкцію на «нульовій» і на 5 хвилині. Показання знімали на спектрофотометрі при λ 347,5 нм проти фосфатного буфера. Паралельно ставили контроль на спонтанний гідроліз BOC, в якому 1 мл слини або гомогенату замінювали на фізрозчин.

Розрахунок проводили за формулою:

$$A = \frac{(A_5 - A_0) - E \cdot n \cdot 1000}{1,0 \cdot E \cdot 300} \quad \text{мк-кат/л, де}$$

A – активність ферменту в мк-кат на 1 л,

A₀ – екстинкція на 0-ій хвилині;

A₅ – екстинкція на 5-ій хвилині;

E – контроль на ВОС;

1,0 – об'єм ротової рідини в мл;

1000 – переклад мл в літр або г в кг;

n – розведення проби;

300 – час інкубації, в секундах;

K – коефіцієнт перерахунку величини екстинкції в концентрацію п-нітрофенолу.

Активність еластази розраховувалась в мікрокаталах на 1 л. 1 катал - це активність еластази, що каталізує відщеплення 1 п-нітрофенолу за 1 секунду.

Активність фосфатаз визначали в сироватці крові і гомогенатах тканин щурів по гідролізу субстрату п-нітрофенілфосфата. Субстрат для визначення лужної фосфатази готували на 0,05 М гліциновому буфері рН 10,5, а для кислій – на рН 4. При впливі фосфатаз від субстрату відщеплюється п-нітрофенол, що має в лужному середовищі жовтий колір. Інтенсивність забарвлення пропорційна активності ферменту. Активність ферментів виражали в мікрокаталах на 1 л сироватки (мк-кат / л) або на 1 кг тканини (мк-кат / кг). За 1 катал брали активність ферменту, здатну утворити 1 моль п-нітрофенолу.

У пробірки розливали по 0,4 субстрату, додавали по 0,1 мл досліджуваної рідини (за секундоміром) і поміщали в термостат при T = 37°C на 30 хвилин. Контроль не інкубували і до внесення досліджуваного матеріалу додавали 5,0 мл 0,05 н NaOH. Реакцію зупиняли 5,0 мл 0,05 NaOH строго за секундоміром. Екстинкцію знімали на спектрофотометрі при довжині хвилі 400 нм, проти контролю. На кожну пробу ставили контроль.

Рахунок проводили по формулі:

$$A = \frac{\Delta E \cdot n}{K \cdot T \cdot M \cdot V} \text{ нкат / г, де}$$

A – активність ферменту,

ΔE – різниця екстинкції між контрольною та дослідною пробами,

n – розведення ферментного розчину,

1000 – коефіцієнт переведення на літр,

K – коефіцієнт перерахунку екстинкції на кількість кінцевого продукту реакції (p-нітрофенолу),

T - час інкубації в секундах,

V - обсяг досліджуваної рідини,

M- концентрація розчину.

Вміст МДА визначався в ротовій рідині пацієнтів, гомогенатах тканин та сироватці крові щурів.

При високій температурі в кислому середовищі малоновий діальдегід реагує з 2-тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений триметильний комплекс, с максимумом поглинання при 532 нм. Молярний коефіцієнт екстинкції цього комплексу - $\varepsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ см}^{-1}$.

Реактиви:

- 0,05М трис-НСl буфер (трис(оксиметил)-амінометан гідрохлорид, рН 7,4, який містить 0,175М хлориду калію.
- 17 % розчин трихлороцтової кислоти (ТХО).
- 0,75 % розчин 2-тіобарбітурової кислоти (ТБК).

Хід визначення: приготований препарат або сироватку крові в буферному розчині рН 7,4 по 0,5 мл поміщають в центрифужні пробірки і осаджують білок додаванням 1,5 мл 17% розчину ТХО (кінцева концентрація 5%), додають 1,5 мл 0,75% ТБК. Проби поміщають на 30 хв в киплячу водяну баню, охолоджують. Після цього осад відокремлюють центрифугуванням протягом 15 хв при 3000 об / хв. В якості контролю використовують проби, що

містять замість зразка 0,5 мл води. Вимірюють оптичну щільність при 530 нм на спектрофотометрі проти контрольної проби.

Розрахунок: кількість малонового діальдегіду розраховують, використовуючи зазначену вище величину молярного коефіцієнта екстинкції, і отриманий результат виражають у нмоль на пробу.

$$A = \frac{E}{1,56 \cdot 10^{-5} \cdot m \cdot 0,5}, \text{ де}$$

E – екстинкція дослідної проби,

0,5 – об'єм речовини, яку вносять в мл,

$1,56 \cdot 10^{-5}$ – молярний коефіцієнт,

m – кількість в 1 мл.

Визначення *активності каталази* в ротовій рідині пацієнтів та в сироватці крові щурів засновано на здатності залишкового перекису водню утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення зворотно пропорційна активності каталази, яку виражали в міллікаталах/кг тканини мозку.

Реактиви:

- 1.4% розчин молібдату амонію: 4 г молібдату амонію розчиняють в 100 мл дистильованої води.
- 2.0,03% розчин перекису водню: 0,09 мл 33% H_2O_2 доводять до 100 мл дистильованою водою.
- 3. 0,05 М трис- HCl рН 7,8: 6,06 г трис- (оксиметил) -амінометана розчиняють в 500 мл дистильованої води, доводять рН до 7,8, переносять в мірну колбу на 1000 мл і доводять до мітки водою.

У пробірки наливають по 2 мл 0,03% розчину перекису водню. Реакцію запускають додаванням 0,1 мл гомогенату. У холосту пробу (контроль на перекис) замість ротової рідини або сироватки крові вносять 0,1 мл дистильованої води. Реакцію зупиняють строго за секундоміром через 10 хв додаванням 1 мл 4% розчину молібдату амонію. Інтенсивність отриманого

забарвлення вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 410 нм (лампа розжарювання) проти води. Паралельно на кожну дослідну пробу ставлять контроль на забарвлення, в який замість перекису водню вносять 2 мл води і 0,1 мл гомогенату.

Розрахунок :

$$A = \frac{E_{\text{хол}} - (E_{\text{дос}} - E_{\text{заб}})}{22,2 \cdot 0,1 \cdot 600} \text{ мкат/л, де}$$

$E_{\text{хол}}$ – екстинкція холостої проби;

$E_{\text{дос}}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{\text{заб}}$ – екстинкція контролю забарвлення;

1000 – перевод мл в літр;

0,1 – об'єм проби, яку вносять в мл;

600 – час інкубації в сек;

K ($22,2 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) – коефіцієнт мілімолярної екстинкції перекису водню.

Принцип методу визначення *активності лізоциму* в ротовій рідині проводилось за бактеріолітичним методом, заснованим на здатності лізоциму лізувати мембрани бактерій. При взаємодії лізоциму з субстратом *Micrococcus lysodeikticus* спостерігається просвітлення субстрату, яке реєструють спектрофотометрично. Ступінь просвітлення пропорційний активності лізоциму, яку виражали в од/кг гомогенату.

Реактиви:

- 0,1 М Фосфатний буфер, рН 6,2.
- а) 0,1 М розчин NaHPO_4 (14,2 г Na_2HPO_4 помістити в мірну колбу об'ємом 1 л і довести до мітки дистильованою водою);
- б) 0,1 М розчин KH_2PO_4 (1,36 г KH_2PO_4 помістити в мірну колбу об'ємом 1 л і довести до мітки дистильованою водою);

- в) Приготування 1 л 0,1 М фосфатного буфера, рН 6,2: 915 мл 0,1 М розчину Na_2HPO_4 +85 мл 0,1 М розчин KH_2PO_4 , довести рН до 6,2.
- Субстрат: 10 мг ацетонового порошку бактерій *Micrococcus lysodeikticus* (штам 2665) суспензують в 50 мл фосфатного буфера в гомогенізаторі при 2500 об/хв.

До кювету спектрофотометра, забезпечену пристроєм для підтримки температури $+30^\circ\text{C}$ вносять 3 мл субстрату, прогрівають до 30°C протягом 5-6 хвилин, потім додають 0,1 мл гомогенату і включають секундомір.

Вимірюють оптичну щільність проб на спектрофотометрі при довжині хвилі 570 нм на 1 та 5 хвилини. У якості контролю використовують 3 мл 0,1 М фосфатного буфера, рН 6,2.

Розрахунок:

$$A = \frac{\Delta E \cdot 3,1 \cdot n}{\Delta t} ; \text{де}$$

A – активність в од/кг (1 одиниця – це зміна оптичної щільності на 1 одиницю за 1 хвилину);

ΔE – різниця екстинкцій між 5 і 1 хвилинами;

3,1 – об'єм субстрату і розчину біосередовища;

n – розведення розчину лізоциму;

Δt - час дослідження (5 хвилин).

Метод оцінки *активності уреаз* в ротовій рідині заснований на здатності уреаз розщеплювати сечовину до аміаку, який під дією реактиву Неслера дає жовте забарвлення. Інтенсивність забарвлення проби прямо пропорційна активності уреаз в гомогенаті.

Реактиви:

- 0,1 М розчин сечовини: 3 г CH_4ON_2 до 0,5 л води,
- Стандартний розчин NH_4Cl для калібрувального графіка (0,555 мкмоль NH 4/мл): 0,787 г NH_4Cl до 0,5 л бідистильованої води, 2 мл стандартного розчину до 100 мл бідистильованої води,

- Реактив Неслера.

Розливають в пробірки по 0,4 мл розчину сечовини, потім додають 0,2 мл гомогената, ретельно перемішують і поміщають у термостат на інкубацію протягом 1 години при 37°C. Через 1 годину пробірки виймають з термостата, додають 4,4 мл дистильованої води і 1 мл реактиву Неслера. Паралельно з досліджуваними ставлять контрольні проби на кожен зразок: 4,4 мл води, 0,4 мл розчину сечовини, 1 мл реактиву Неслера і 0,2 мл гомогенату. Контрольні проби на інкубацію не ставлять. Всі проби, контрольні і досліджувані, центрифугують 20 хвилин при 2500 об/хв. Вимірюють екстинкцію на спектрофотометрі при 440 нм проти контролю на реактиви (4,4 мл води, 0,4 мл сечовини і 0,2 мл фіз. розчину, 1 мл реактиву Неслера).

Розрахунок :

$$A = \frac{(E_{\text{оп}} - E_{\text{к}}) \cdot 1000}{k \cdot 3600 \cdot 0,2} \text{ мккат/кг, де}$$

$E_{\text{оп}}$ – екстинкції дослідної проби,

$E_{\text{к}}$ – екстинкції контрольної проби,

K – коефіцієнт перерахунку екстинкції в мкмолі NH_4 ,

3600 – час в секундах,

1000 – розрахунок на 1 кг.

Визначення *ступеню дисбіозу (СД)* в ротовій рідині розраховували як відношення відносної активності уреаз ($U_{\text{р.відн}}$) до відносної активності лізоциму (Лвідн.) [69]. Розраховують середні результати активності уреаз та лізоциму у здорових пацієнтів ($U_{\text{р.здор}}$ і $L_{\text{із.здор}}$), а також ці показники при патології, після чого розраховують відносні активності цих ферментів ($U_{\text{р.відн}}$ і $L_{\text{із.відн}}$).

Розрахунок:

$$U_{\text{р.відн}} = \frac{U_{\text{р.пат}}}{U_{\text{р.здор}}} ; \quad L_{\text{із.відн}} = \frac{L_{\text{із.пат}}}{L_{\text{із.здор}}} ; \quad \text{СД} = \frac{U_{\text{р.відн}}}{L_{\text{із.відн}}}$$

кПоказник $U_{р.відн}$ дозволяє судити про ступінь мікробного обмінення слизової оболонки товстої кишки, показник $L_{із.відн}$ – про стан антимікробного захисту слизової оболонки товстої кишки.

Холестерин визначається ферментативним методом. Етерифікований холестерин під впливом холестеролестерази розщеплюється на вільний холестерин і жирну кислоту. Холестерин під впливом холестеролоксидази в присутності кисню окислюється в 4-холестенон з утворенням молекули перекису водню. Остання вступає в реакцію з 4-амінофеназоном і фенолом з утворенням в забарвлених в червоних колір з'єднань. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації загального холестерину.

Реактиви:

а) ензимний реагент (готовий до роботи):

- холестеринестераза (150 ± 15) Е/л;
- холестериноксидаза (100 ± 10) Е/л;
- пероксидаза ($5,0 \pm 0,5$) КЕ/л;
- 4 – амінофеназон ($0,300 \pm 0,015$) ммоль/л;
- фенол ($30,0 \pm 1,5$) ммоль/л;
- Тріс ($30,0 \pm 1,5$) ммоль/л;
- стабілізатори, активатори;

б) калібрувальний розчин холестерину з концентрацією ($5,17 \pm 0,10$) ммоль/л, (готовий до роботи).

Аналіз проводять у відповідності із таблицею 2.2.

Розчин у пробірці ретельно перемішують і витримують у термостаті при плюс 37°C протягом 10 хв або інкубують 20 хв при температурі від плюс 20°C до плюс 25°C . Вимірюють оптичну щільність дослідної проби і калібрувальної проби проти холостої проби. Остаточне забарвлення (рожево-червоне або бузкове) стабільне протягом 60 хв після закінчення інкубації за умови запобігання потрапляння прямого сонячного світла. Екстинкцію знімають на спектрофотометрі при довжині хвилі (500-550 нм).

Таблиця 2.2

Аналіз розчину холестерину

Відміряти у пробірку, мл	Дослідна проба	Калібрувальна проба	Холоста проба
Ензимний реагент	2,00	2,00	2,00
Аналізуємий розчин	0,02	-	-
Калібрувальний розчин холестерину		0,02	
Дистильована вода			0,02

Розрахунок:

$$C = \frac{E_{\text{досл}}}{E_{\text{каліб}}} \cdot 5,17 \text{ ммоль/л, де}$$

C – концентрація холестерину в дослідній пробі, ммоль/л;

5,17 – концентрація холестерину в калібрувальному розчині, ммоль/л;

$E_{\text{досл}}$ – оптична щільність дослідної проби;

$E_{\text{каліб}}$ – оптична щільність калібрувальної проби.

Тригліцериди визначалися ензиматичним методом. Метод заснований на реакціях:

Тригліцериди – ліпаза → гліцерин + жирні кислоти;

Гліцерин + АТФ – гліцерокіназа → гліцерил-3-фосфат + АДФ;

Гліцерол-3-фосфат + O_2 – гліцерофосфатоксидаза → діоксиацетон фосфат + $2H_2O_2$;

H_2O_2 + 4-амінофеназон + 4-хлорфенол – пероксидаза → хінонімін + $4H_2O$.

Реактиви:

а) розчин ферментів рН 7,5 (готовий до роботи);

- PIPES – 40 ммоль/л;
- 4-хлорфенол – 5 ммоль/л;
- $MgSO_4$ – 1 ммоль/л;

- 4 – амінофеназон – 0,5 ммоль/л.
- Ліпаза – 1500 МЕ/Л;
- Гліцерокіназа – 200 МЕ/Л;
- Гліцерофосфатоксидаза – 1000 МЕ/Л;
- Пероксидаза – 250 МЕ/Л;

б) калібрувальний розчин (відповідає концентрації $(2,26 \pm 0,10)$ ммоль/л тригліцеридів).

Аналіз проводять у відповідності із таблицею 2.3.

Таблиця 2.3

Аналіз розчину тригліцеридів

Відміряти у пробірку, мл	Дослідна проба	Калібрувальна проба	Холоста проба
Досліджуваний матеріал	0,02	-	-
Дистильована вода	-	-	0,02
Калібрувальний розчин	-	0,02	-
Розчин ферментів	2,00	2,00	2,00

Розчин у пробірці ретельно перемішують і витримують у термостаті при плюс 37°C протягом 10 хв або інкубують 15 хв при температурі від плюс 20°C до плюс 25°C . Вимірюють оптичну щільність дослідної проби і калібрувальної проби проти холостої проби. Остаточне забарвлення стабільне протягом 30 хв після закінчення інкубації за умови запобігання потрапляння прямого сонячного світла. Екстинкцію знімають на спектрофотометрі при довжині хвилі 505 (490-550 нм).

Розрахунок:

$$C = \frac{E_{\text{досл}}}{E_{\text{каліб}}} \cdot 2,26 \text{ ммоль/л, де}$$

C – концентрація тригліцеридів в пробі, ммоль/л;

2,26 – концентрація тригліцеридів в калібрувальному розчині, ммоль/л;

$E_{\text{досл}}$ – оптична щільність дослідної проби;

$E_{\text{каліб}}$ – оптична щільність калібрувальної проби.

Глюкоза визначалася глюкозооксидазним методом. Глюкоза в присутності глюкозооксидази окислюється киснем повітря до глюконової кислоти та перекису водню, який у присутності пероксидази реагує з фенолом та 4 – амінофеназоном з утворенням хіноніміна червоно-фіолетового забарвлення, який визначається фотометрично.

Реактиви:

а) Ензими (розчин):

- пероксидаза (2200 ± 220) U/л;
- β -D – глюкозооксидаза (18000 ± 1800) U/л;
- 4 – амінофеназон (110 ± 11) мг/л;
- стабілізатори, активатори.

б) Буферний розчин:

- фосфатний буфер (рН 7,2 - 7,4) ($0,10 \pm 0,01$) моль/л;
- фенол (190 ± 19) мг/л;
- стабілізатори.

в) Калібрувальний розчин глюкози ($10,0 \pm 0,5$) ммоль/л.

г) Лабораторний скляний посуд ГОСТ 1770-74, ГОСТ 20282-94.

д) Дистильована вода ГОСТ 6709-72.

Для приготування монореагенту на глюкозу змішують буферний розчин і ензими в співвідношенні 1:1 (рекомендується притримуватися обговореного порядку змішування розчинів). Отриманий розчин стійкий не менше 2 тижнів при збереженні в ємності з темного скла і температурі від плюс 20°C до плюс 25°C або 1 місяця при температурі від плюс 2°C до 8°C . При збереженні розчину допускається зміна його забарвлення до слабо-рожевого кольору, що на результатах аналізів не позначається. Після проведення аналізу з біореагентом розчини готові до використання.

Аналіз проводять у відповідності із таблицями 2.4-2.5.

Таблиця 2.4

Варіант аналізу з використанням монореагенту

Відміряємий розчин, мл	Дослідна проба	Калібрувальна проба	Холоста проба
Ротова рідина	0,01	-	-
Калібрувальний розчин	-	0,01	-
Фізіологічний розчин	-	-	0,01
Монореагент	1,00	1,00	1,00

Таблиця 2.5

Варіант аналізу з використанням біореагенту

Відміряємий розчин, мл	Дослідна проба	Калібрувальна проба	Холоста проба
Ротова рідина	0,01	-	-
Калібрувальний розчин	-	0,01	-
Фізіологічний розчин	-	-	0,01
Буферний розчин	0,5	0,5	0,5
Ензими	0,5	0,5	0,5

В обох випадках змішати компоненти, витримати 20 хв при кімнатній температурі (від плюс 18⁰ С до плюс 25⁰ С), або 12 хв при температурі плюс 37⁰ С, після чого виміряти оптичну щільність дослідної проби і калібрувальної проби проти холостої проби на спектрофотометрі при довжині хвилі 500-550 нм лампа розжарювання. Забарвлення стабільне протягом (60±2) хв.

Розрахунок:

$$C = \frac{E_{\text{досл}}}{E_{\text{каліб}}} \cdot 10 \text{ мкмоль/л, де}$$

C – концентрація глюкози в дослідній пробі, ммоль/л,

10 – концентрація глюкози в калібрувальному розчині, ммоль/л,

$E_{\text{досл}}$ – оптична щільність дослідної проби,

$E_{\text{каліб}}$ – оптична щільність калібрувальної проби.

2.3.6 Молекулярно-генетичні та епігенетичні методи дослідження

Виділення ДНК з клітин букального епітелію проводили за модифікованою методикою з Chelex [364]. В епендорф до аплікатору із зішкрібком епітеліальних клітин вносили 200 мкл 5% розчину Chelex 100 в стерильній дистильованій воді (Chelex в натрієвій формі, 100-200 mesh, Bio-Rad). Інкубували при 56 °С 30 хв з постійним перемішуванням на термошейкері. Потім інкубацію проводили при 96°С протягом 8 хв, періодично струшуючи. Після інкубації центрифугували (на центрифугу Eppendorf Centrifuge 5424) при 12 000 g 3 хв. Концентрацію і чистоту препарату ДНК визначали на спектрофотометрі (Nanophotometr, Implen), відібравши аліквоту 5 мкл безпосередньо з пробірки з розчином ДНК. Для ПЛР відбирали 5 мкл супернатанту.

Алельні варіанти генів PON1 Gln192Arg, ApoE Leu2Pro, VEGF A, C634G, TGF T869 C. оцінювали методом алель специфічної полімеразної ланцюгової реакції. Ампліфікацію досліджуваної ділянки гена проводили паралельно в двох епендорфах для нормального і мутантного варіанта гена в 20 мкл буферного розчину і 100 нм кожного олігонуклеотидного праймера (набори «SNP-експрес-ЕФ» НПФ «Літех», Росія), 100-150нг ДНК. В якості негативного контрольного зразка вносили розчинник в обсязі 5 мкл в обидва типи реакційної суміші (табл. 2.6).

Таблиця 2.6

Послідовність праймерів та умови проведення ПЛР- аналізу

Назва	Ген	Поліморфізм	Тест-система, праймери	T °C відпалу
1	2	3	4	5
Параоксаназа, кальцій-залежна естераза	PON1	Gln192Arg	«SNP-експрес-ЭФ» НПФ «Літех»	64
Ендотеліальна синтаза	eNOS3	4B/4A	F-CTA TGG TAG TGG CTT GGC TGG AGG R- ACC GCC CAG GGA ACT CCG CT	60
4АполіпропротеїнЕ	ApoE	Leu28Pro	«SNP-експрес - ЭФ» НПФ «Літех»	64
Ендотеліальний фактор росту судин	VEGF A	C634G	«SNP-експрес - ЭФ» НПФ «Літех»	64

Продовження табл. 2.6

1	2	3	4	5
Трансформуючий фактор росту	TGF	T869C	«SNP-експрес - ЭФ» НПФ «Літех»	64
Рецептор вітаміну D	VDR		«SNP-Скрин» НПК «Синтол»	68
Колаген 1 типу альфа	COL1A1		«SNP-Скрин» НПК «Синтол»	68

Визначення олігонуклеотидних поліморфізмів генів VDR T352C rs10735810 і COL1A G1997Trs1107946 проводили методом ПЛР в реальному часі наборами «SNP-Скрин» (НПК «Сінтрол», Росія) (табл. 2.6).

Поліморфізм гена eNos3 4A/4B (делеція 27 пар нуклеотидів) визначали методом ПЛР з відповідними праймерами (4b-210, 4a-183, 4b / a-210, 183).

Ампліфікацію проводили на термоциклері CFX96 (Bio-Rad). Умови були наступними: початкова денатурація протягом 5 хв при 94°C, (20 сек 94°C, 30 сек 64°C, 40 сек 72°C) 35 циклів.

Фракціонування продуктів ампліфікації проводили в горизонтальному 2% агарозному гелі, приготованому на одноразовому трис-боратному буфері (1xTBE), при напрузі 100В протягом 45 хвилин. Маркер молекулярної ваги-ДНК рUC19: Msp1. Агарозний гель забарвлювали бромистим етидієм і візуалізували у прохідному ультрафіолетовому світлі.

При визначенні олігонуклеотидних поліморфізмів методом ПЛР в реальному часі окремо детектували продукти ПЛР-РВ на двох каналах флуоресценції FAM і Hex. Результати реакції на двох каналах дозволяють одночасно визначити присутність кожного з алелів досліджуваного поліморфізму.

Епігенетичні дослідження включали оцінку в ротовій рідині пацієнтів, тканинах ясен та крові експресії генів остеогенеза, вмісту прозапальних цитокінів та метилювання промоторів генів в тканинах ясен, що беруть участь в кістковому метаболізмі [281]. Ротову рідину у 14 пацієнтів 30-55 років збирали натщесерце і заморожували при температурі -20°C . Для оцінки вмісту IL-6, MMP13, LINE1 використовували набір Human Periodontal Diseases array C1 (Cat N ААН-PPD-1, RayBiotech).

Перед проведенням аналізу слина була розморожена і розведена в два рази стерильним фізіологічним розчином. Аналіз проводили відповідно протоколу до набору. Облік реакції здійснювали на системі відеодокументації VersaDoc 4000 MP (Bio-Rad, USA) з високочутливою камерою для детектування люмінесценції.

Обробку даних проводили за допомогою прикладеної до набору програми Ray Bio analysis tool software (S02-ААН-PDD-1). Розрахунок умовної концентрації здійснювали за формулою:

$$X(Ny) = X(y) \cdot P1/P(y),$$

де: $X(y) = X(Ny)$ – нормалізована інтенсивність сигналу для точки «X» на осі «у», $P1$ – середня сигнальна щільність позитивних контрольних точок на контрольній матриці; $P(y)$ – середня сигнальна щільність позитивних контрольних точок на осі «у».

Концентрацію ДНК в генах визначали спектрофотометрично на спектрофотометрі Emplen і доводили до концентрації 1 мкг/мл у всіх пробах. Бісульфітну обробку виділеної ДНК проводили за допомогою набору EpiTest Plus Bisulfite Kits (Qiagen). Ампліфікацію ДНК проводили за допомогою набору QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) за програмою: $95^{\circ}\text{C} - 15 \text{ хв.}; 95^{\circ}\text{C} -$

30 сек., віджиг праймерів – 30 сек., елонгація – 72⁰ С - 30 сек. (39 циклів); 72⁰ С – 10 хв. (табл. 2.7).

Таблиця 2.7

	Праймер	T ⁰ С
<i>Rankl</i>	F-5' – [Biotin] <i>TTTTGGATTTGATTAGTTTGATATAAGAA-3</i>	52
<i>Rankl</i>	R-5' - <i>CATTTTCAACCACAAACAATACTATTTAA-3</i>	
<i>Rankl</i>	Seq- <i>AGTTAGGTGTGGGATATAGT</i>	
<i>IFNg</i>	F-5' -[Biotin] <i>TTTGTAAGGTTTGAGAGGTTTTAGAAT-3'</i>	49
<i>IFNg</i>	R-5' - <i>CAAACCCATTATACCCACCTATACCA-3'</i>	
<i>IFNg</i>	Seq- 5' - <i>TTTTATACCTCCCCACTT-3'</i>	
<i>LEP</i>	F-[Biotin] <i>GAGTGTGAGGGGTATTTTTGATG</i>	52
<i>LEP</i>	R- <i>GCAACCATAATAAACCTACACCTTC</i>	
<i>LEP</i>	Seq- <i>AAACCCTACACCTTCTATCT</i>	

Піросеквенірування проводили на приладі PyroMark Q24, вміст метильованої ДНК в пробі оцінювали за допомогою програми PyroMark CpG software 2.01.

2.3.7 Біофізичні методи дослідження

Спектроколориметричний метод оцінки ступеня запалення ясен у пацієнтів з ЦД 2 типу заснований на зміні показників проникності і профарбування ясен розчином Шиллера-Писарева (Ш-П), що фіксуються кількісно в оптичних і колірних показниках за допомогою спектроколориметра типу «Пульсар», адаптованого для стоматологічних цілей [103].

Для оцінки запальних процесів в тканинах парадонта і слизової оболонки ясен використовують пробу Шиллера-Писарева (Ш-П), що заснована на реакції фарбування глікогену йодом в колір, який змінюється від світло-коричневого до темно-бурого залежно від ступеня запального процесу

(при запаленні кількість глікогену різко зростає). За ступенем фарбування розрізняють негативну пробу (солом'яно-жовте забарвлення), слабо позитивну (світло-коричневе) і позитивну (темно-буре). Недоліком вказаного тесту є занижена його інформативність, обумовлена суб'єктивністю, неможливістю фіксації за кольором невеликих змін кількості глікогену в яснах, а отже і визначення ранніх стадій запального процесу і процесів стертого характеру, що властиве дитячому організму. При цьому неможливе проведення детального аналізу динаміки зміни запальних процесів через відсутність кількісного показника, що особливо важливо при тривалому нагляді, а також проведення планово-профілактичних заходів в дитячих шкільних і дошкільних установах. Проведені дослідження показали, що фарбування слизової пародонта при вживанні вказаного розчину можливе з двох причин. Перша пов'язана з фарбуванням ясен при високій проникності епітелію самим йодним розчином. При цьому колірні параметри ясен визначатимуться йодним розчином, проникаючим в слизову. Друга пов'язана з реакцією йоду з глікогеном, що надає темно-буре забарвлення і зміщуючи основний максимум коефіцієнта відбиття світла в область 660-700 нм. Спосіб кількісної оцінки ступеня запалення у тканинах пародонта шляхом проведення спектроколориметрії дозволяє фіксувати за кольором кількісно як найраніші стадії запалення, пов'язані з порушенням бар'єрних властивостей пародонта, так і відстежувати кількісно динаміку розвиненого запального процесу, що супроводжується зміною в тканинах пародонта кількості глікогену, за рахунок чого стає можливим адекватним ступеню запалення використання терапевтичних і профілактичних засобів. Даний метод дозволяє відділити початковий етап запалення (порушення бар'єрного захисту) від етапу розвиненого запального процесу, коли має місце реакція йодного розчину з глікогеном, виключає виникнення суб'єктивних помилок при визначенні ступеню фарбування візуальним шляхом. Метод надає можливість кількісного відстежування динаміки розвитку запального процесу (за рахунок збереження даних дослідження) і тим самим дозволяє здійснювати вибір необхідних

терапевтичних заходів при ортопедичному лікуванні.

Спектроколориметрична оцінка функціонального стану мікрокапілярного русла ясен пацієнтів з ЦД базується на зміні кровонаповнення капілярів і, як наслідок, спектра відбиття яснами світла видимого діапазону після 10-хвилинного нефізіологічного жувального навантаження з використанням жувальної гумки «Orbit без цукру». Спектри відбиття світла яснами і їх колірні параметри також фіксувалися за допомогою автоматичного спектроколориметра «Пульсар» [104]. Зміни в спектрах відбиття і пов'язаних з ними колірних параметрах ясен усереднювалися по групі.

Для визначення структурно-функціонального стану кісткової тканини у пацієнтів з ЦД застосовували ультразвукову денситометрію на п'ятковій кістці за допомогою ультразвукового денситометра Osteo Syst SONOST 2000 (Корея) [339]. При цьому визначали такі показники:

- SOS (speed of sound) – швидкість поширення ультразвуку через кістку (м/с), показник, який детермінується еластичністю і щільністю кістки;
- BUA (broadband ultrasound attenuation) широкосмугове загасання (декремент) ультразвуку через кістку (дБ/МГц) – показник, який характеризує втрату інтенсивності ультразвуку в середовищі його поширення, і є відображенням не тільки щільності кістки, але і кількості, розмірів і просторової орієнтації трабекул кісткової тканини, тобто архітектоніки кістки;
- BQI (bone quality index) – індекс якості кістки (%), показник, який розраховується програмно на основі показників SOS і BUA.

Денситометричні дослідження проводили при первинному обстеженні пацієнтів, а також через 1 рік спостереження.

Оцінка показників жирового обміну у пацієнтів з ЦД 2 типу в процесі ортопедичного лікування проводилося за допомогою біоімпедансних аналізаторів компонент складу тіла ABC-01 «Медасс» (Росія) [94] і OMRON BF511 (Японія) [185]. При цьому оцінювалися індекс маси тіла, жирова маса тіла, індекс жирової маси тіла і рівень вісцерального жиру в організмі.

2.3.8 Статистична обробка даних

Всі результати досліджень оброблялися статистично за допомогою програми STATISTICA 6.1 для оцінки похибок і їх достовірності. Статистична обробка даних епігенетичних досліджень проводилася за допомогою програми STATISTICA 10.0.

Висновки до розділу 2:

- у розділі детально описані дизайн і методи дослідження;
- у роботі використані сучасні клінічні, клініко-лабораторні, експериментальні і математичні методи дослідження;
- використані в роботі препарати та прилади зареєстровані в Україні і мають дозвільні документи для застосування.

Матеріали розділу опубліковані в працях [1-20], наведених у додатку А.

РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ НА ТВАРИНАХ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ СУПРОВОДУ ОРТОПЕДИЧНОГО ЛІКУВАННЯ ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ ПРИ ДЕНТАЛЬНІЙ ІМПЛАНТАЦІЇ

3.1 Біохімічні показники сироватки крові щурів при моделюванні цукрового діабету 2 типу, встановлення імплантатів та проведення лікувально-профілактичних заходів

Цукровий діабет є одним з найскладніших соматичних захворювань, що мають негативний вплив на процеси остеоінтеграції при протезуванні на дентальних імплантатах [93]. При даній соматичній патології відбувається порушення вуглеводного обміну в організмі (рівень глюкози в крові), зниження імунітету і резистентності в порожнині рота, порушення мікробіоценозу, зубоясного прикріплення, поява патологічних зубоясенних кишень, ураження мікросудин, підвищена їх проникність, хронічне запалення в тканинах пародонта [13, 27, 43, 111, 112, 316, 343].

Тому терапевтичний супровід ортопедичного лікування з опорою на імплантати пацієнтів з ЦД та метаболічними порушеннями відіграє найважливішу роль в остеоінтеграції у них імплантатів і стабілізації отриманих результатів лікування. Природно, що розробка лікувально-профілактичного комплексу супроводу ортопедичного лікування таких пацієнтів потребувала попередніх експериментальних досліджень.

Була проведена оцінка біохімічних показників сироватки крові щурів в процесі моделювання цукрового діабету 2 типу, фіксації імплантатів та проведення лікувально-профілактичних заходів [127].

У таблиці 3.1 наведені дані дослідження в сироватці крові щурів рівня глюкози і активності антиоксидантного ферменту каталази. Як видно, відтворення ЦД 2 типу за допомогою регулярних ін'єкцій протамін сульфату викликало достовірне збільшення вмісту глюкози на 24,0%. Проведення

фіксації імплантатів не зробило істотного впливу на вміст глюкози в сироватці крові щурів 3-ї групи, яке збереглося на рівні значень у щурів 2-ї групи. При цьому профілактичне введення комплексу препаратів в поєднанні з регулярним зрошенням порожнини рота тварин на фоні розвитку ЦД 2 типу ефективно запобігало підвищенню рівня цукру в крові щурів 4-ї групи (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Вміст глюкози і активність каталази в сироватці крові щурів на фоні розвитку цукрового діабету 2 типу після фіксації імплантатів та проведення профілактики

Групи щурів	Вміст глюкози, ммоль/л	Активність каталази, мкат/л
Інтактна	$5,95 \pm 0,38$	$0,43 \pm 0,02$
ЦД 2 типу	$7,38 \pm 0,64$ $p < 0,05$	$0,35 \pm 0,02$ $p < 0,05$
ЦД 2 типу + фіксація імплантатів	$7,70 \pm 0,51$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$	$0,28 \pm 0,01$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
ЦД 2 типу + фіксація імплантатів + профілактика	$6,45 \pm 0,43$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$ $p_2 = 0,05$	$0,41 \pm 0,01$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від інтактної групи;

p_1 – показник достовірності відмінностей від групи «ЦД 2 типу»;

p_2 – показник достовірності відмінностей від групи «ЦД 2 типу + фіксація імплантатів».

Моделювання патології ЦД 2 типу на фоні збільшення глюкози призвело до зниження антиоксидантного захисту організму щурів 2-ї групи, про що свідчило зменшення активності каталази на 18,6% в сироватці крові цих тварин. Установка імплантатів щурам 3-ї групи викликала ще більш значне

зниження активності антиоксидантної системи - зменшення активності каталази на 34,9%. Профілактичні заходи, які проводили у тварин 4-ї групи, ефективно запобігали зниження активності сироваткової каталази, викликане фіксацією імплантатів на фоні розвитку експериментального ЦД 2 типу. Активність основного ферменту антиоксидантного захисту організму в сироватці крові щурів 4-ї групи при цьому достовірно підвищилася і відповідала значенням у інтактних тварин. Результати свідчать про антиглікемічний і антиоксидантний вплив компонентів запропонованого ЛПК в умовах розвитку ЦД 2 типу та експериментальної установки імплантатів (табл. 3.1).

У сироватці крові щурів, у яких моделювали ЦД 2 типу, зареєстровано також підвищення активності уреазы в 1,7 рази з одночасним зменшенням активності лізоциму на 29,5% (табл. 3.2). Ці результати вказують на зниження неспецифічного антимікробної захисту в організмі при розвитку ЦД 2 типу і, як наслідок, розвиток бактеріємії. Після фіксації імплантатів у щурів 3-ї групи досліджувані показники змінилися ще в більшій мірі: активність уреазы підвищилася в 2,3 рази, а активність лізоциму знизилася на 48,9% в порівнянні зі значеннями у інтактних щурів (табл. 3.2).

Пероральне введення тваринам 4-ї групи препаратів профілактичного комплексу з одночасним зрошенням порожнини рота ефективно попереджало порушення в сироватці крові, викликані моделюванням ЦД 2 типу і установкою імплантатів. Активність уреазы в сироватці крові щурів, яким проводили профілактику, істотно зменшилася і відповідала нормальному рівню. Рівень активності лізоциму в сироватці крові щурів 4-ї групи під впливом профілактики достовірно перевищував його значення у тварин 3-ї групи, але не перевищував норми.

Таблиця 3.2

Активність уреазы, лізоциму і ступеня дисбіозу в сироватці крові щурів з цукровим діабетом 2 типу після фіксації імплантатів та проведення профілактики

Групи щурів	Активність уреазы, нкат/л	Активність лізоциму, од/л	Ступінь дисбіозу
Інтактна	2,1 ± 0,3	83,8 ± 7,6	1,02 ± 0,1
ЦД 2 типу	3,5 ± 0,4 p < 0,04	59,1 ± 5,6 p < 0,012	2,37 ± 0,18 p < 0,001
ЦД 2 типу + фіксація імплантатів	4,8 ± 0,3 p < 0,001 p ₁ < 0,01	42,8 ± 4,1 p < 0,001 p ₁ < 0,05	4,47 ± 0,27 p < 0,001 p ₁ < 0,001
ЦД 2 типу + фіксація імплантатів + профілактика	2,0 ± 0,2 p > 0,05 p ₁ < 0,005 p ₂ < 0,001	68,0 ± 2,7 p = 0,1 p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,001	1,17 ± 0,09 p > 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від інтактної групи;

p₁ – показник достовірності відмінностей від групи «ЦД 2 типу»;

p₂ – показник достовірності відмінностей від групи «ЦД 2 типу + фіксація імплантатів».

Розрахункові показники ступеня дисбіозу характеризують стан «антимікробний захист - умовно-патогенні бактерії» в організмі. Моделювання ЦД 2 типу у щурів 2-ї групи тварин викликало збільшення ступеня дисбіозу в 2,4 рази. Установка імплантатів щурам 3-ї групи призвела до більш суттєвого підвищення ступеня генералізованого дисбіозу – зареєстровано його збільшення в 4,5 рази в порівнянні з інтактною групою і в 1,9 рази по відношенню до рівня цього показника у щурів 2-ї групи з ЦД 2 типу. Введення профілактичних препаратів і зрошення порожнини рота у тварин з ЦД 2 типу після установки імплантатів дозволило істотно знизити ступінь дисбіозу практично до нормального рівня (табл. 3.2).

Результати дослідження маркерів запалення в сироватки крові експериментальних тварин наведені в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Маркери запалення в сироватці крові щурів з цукровим діабетом 2 типу після фіксації імплантатів та проведення профілактики

Групи щурів	Вміст МДА, ммоль/л	Активність еластази, мк-кат/л
Інтактна	$0,86 \pm 0,03$	$120,1 \pm 3,6$
ЦД 2 типу	$1,04 \pm 0,07$ $p < 0,05$	$149,0 \pm 11,4$ $p < 0,05$
ЦД 2 типу + фіксація імплантатів	$1,21 \pm 0,05$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$	$129,1 \pm 7,9$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$
ЦД 2 типу + фіксація імплантатів + профілактика	$0,93 \pm 0,07$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,005$	$109,5 \pm 3,0$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,005$ $p_2 < 0,05$

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від інтактної групи;

p_1 – показник достовірності відмінностей від групи «ЦД 2 типу»;

p_2 – показник достовірності відмінностей від групи «ЦД 2 типу + фіксація імплантатів».

Наведені результати свідчать, що в сироватці крові щурів 2-ї групи, яким моделювали ЦД 2 типу за допомогою ін'єкцій протаміну, відзначено достовірне збільшення маркерів запалення: вмісту МДА – на 32,4% і активності еластази – на 31,6%. Отримані дані свідчили про наявність у щурів 2-ї групи системного запалення та активації перекисного окислення ліпідів (табл. 3.3).

Фіксація імплантатів щурам 3-ї групи сприяла ще більшому підвищенню рівня МДА, але не змінила активність еластази в сироватці крові, що вказує на

інтенсифікацію ПОЛ в організмі тварин під впливом фіксації імплантатів на фоні розвитку ЦД 2 типу (табл. 3.3).

Регулярне введення комплексу профілактичних препаратів ефективно перешкоджало підвищенню рівня МДА і одночасно сприяло суттєвому зниженню активності еластази в сироватці крові тварин 4-ї групи. У порівнянні з показниками у щурів 3-ї групи (ЦД 2 типу + фіксація імплантатів) у сироватці крові щурів, які отримували профілактику, вміст МДА був знижений на 23,1%, а активність еластази – на 15,2%. При цьому рівень МДА достовірно не відрізнявся від відповідних значень в сироватці крові інтактної групи щурів, а активність еластази була нижче рівня у інтактних щурів. Наведені результати свідчать про активацію системного запалення і інтенсифікацію ПОЛ в організмі тварин на фоні розвитку ЦД 2 типу, про посилення процесів ПОЛ після фіксації імплантатів. Крім того, отримані дані переконливо доводять антиоксидантну і протизапальну ефективність ЛПК (табл. 3.3).

3.2 Вплив моделювання цукрового діабету 2 типу та фіксації імплантатів на біохімічні показники тканин пародонта щурів

При плануванні дентальної імплантації необхідно враховувати наявність абсолютних і відносних протипоказань [150].

Серед факторів ризику і відносних протипоказань до оперативних втручань, в тому числі при дентальній імплантації, цукровий діабет є першорядним [43, 93, 111]. При цьому великого значення набуває процес адекватного ремоделювання кістки. Саме ці процеси забезпечують довготривалу остеоінтеграцію і стабільність імплантату [308].

Ремоделювання являє собою тонку рівновагу між формуванням і деградацією тканин, що контролюване активністю протеолітичних ферментів. Аналіз впливу цукрового діабету на запальні процеси в порожнині рота і

остеоінтеграцію імплантату виявив зміну процесів ремоделювання кістки і недостатню її мінералізацію, що призводить до уповільнення процесу остеоінтеграції [13, 32, 112].

Відтворення ЦД 2 типу за допомогою багаторазових ін'єкцій протаміну призвело до виражених метаболічних зрушень в яснах щурів. Як видно з наведених даних, розвиток ЦД 2 типу сприяє інтенсифікації запалення в яснах експериментальних тварин, про що говорить значне підвищення активності еластази на 55,5%. Установка імплантатів тваринам 3-ї групи викликала ще більш виражене збільшення активності еластази в яснах – на 71,8% (табл. 3.4) [130].

У яснах щурів 4-ї групи, якій проводили комплексну профілактику препаратами перед фіксацією імплантатів, активність еластази, а отже і інтенсивність запалення, знизилася достовірно по відношенню до показників у 2-й і 3-й групах, але одночасно зберігалася високою в порівнянні з нормальними значеннями в інтактній групі. Отримані результати свідчать про протизапальні властивості розробленого комплексу препаратів (табл. 3.4).

З одночасним розвитком запалення в яснах щурів з ЦД 2 типу виявлено зниження рівня гіалуронової кислоти. Цей показник зменшився в яснах щурів 2-ї групи на 23,0%. Отримані дані свідчать про збільшення проникності слизової оболонки порожнини рота тварин при розвитку у них ЦД 2 типу, оскільки гіалуронова кислота виконує функцію міжклітинного «цементу». Фіксація імплантатів щурам 3-ї групи не вплинула на рівень гіалуронової кислоти в їх яснах. Проведення профілактики 4-й групі перед установкою імплантатів запобігало зниженню рівня гіалуронової кислоти в яснах щурів з ЦД 2 типу і сприяло збереженню її нормального рівня (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Вплив експериментального цукрового діабету 2 типу та установки імплантатів на активність еластази і вміст гіалуронової кислоти в яснах щурів

Групи щурів	Активність еластази, мк-кат/кг	Вміст гіалуронової кислоти, мг/кг
Інтактна	23,8 ± 1,3	635 ± 59
ЦД 2 типу	37,0 ± 1,6 p < 0,001	489 ± 51 p < 0,05
ЦД 2 типу + фіксація імплантатів	40,9 ± 0,5 p < 0,001 p ₁ > 0,05	526 ± 38 p > 0,05 p ₁ > 0,05
ЦД 2 типу + фіксація імплантатів + профілактика	32,5 ± 1,2 p < 0,001 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,001	586 ± 43 p > 0,05 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від інтактної групи;
p₁ – показник достовірності відмінностей від групи «ЦД 2 типу»;
p₂ – показник достовірності відмінностей від групи «ЦД 2 типу + фіксація імплантатів».

Дані результати свідчать, що ЦД 2 типу індукує запальні процеси, і, як наслідок, призводить до збільшення проникності слизової оболонки в ротовій порожнині експериментальних тварин. Фіксація імплантатів підсилює інтенсивність запалення і не впливає на рівень гіалуронової кислоти. Запропонована схема профілактики ефективно запобігає розвитку запалення і зниження вмісту гіалуронової кислоти в яснах тварин з ЦД 2 типу і після установки імплантатів (табл. 3.4).

Інтенсифікація запалення на фоні ЦД 2 типу тягне за собою збільшення контамінації умовно-патогенних і патогенних бактерій на яснах щурів 2-ї

групи, в якій моделювали ЦД 2 типу. Цей висновок зробили на основі підвищення активності уреазу на 69,4%. Фіксація імплантатів викликала більш значне підвищення активності цього ферменту (на 138,8%), що виділяється умовно-патогенною мікробіотою порожнини рота, в порівнянні з нормальним рівнем, і на 41,0% по відношенню до показника в яснах щурів 2-ї групи. Профілактичний комплекс мав виражену антимікробну дію: активність уреазу в яснах тварин 4-ї групи достовірно знизилася і відповідала значенням в яснах інтактних щурів (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Вплив експериментального цукрового діабету 2 типу та установки імплантатів на активність уреазу, лізоциму і ступінь дисбіозу в яснах щурів

Показники Групи	Активність уреазу, мк-кат/кг	Активність лізоциму, од/кг	Ступінь дисбіозу
Інтактна	$0,49 \pm 0,07$	132 ± 9	$1,05 \pm 0,1$
ЦД 2 типу	$0,83 \pm 0,10$ $p = 0,05$	101 ± 4 $p < 0,005$	$2,19 \pm 0,25$ $p < 0,001$
ЦД 2 типу + фіксація імплантатів	$1,17 \pm 0,14$ $p < 0,01$ $p_1 = 0,05$	83 ± 5 $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$	$3,79 \pm 0,27$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
ЦД 2 типу + фіксація імплантатів + профілактика	$0,68 \pm 0,09$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	121 ± 4 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$	$1,51 \pm 0,14$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від інтактної групи;

p_1 – показник достовірності відмінностей від групи «ЦД 2 типу»;

p_2 – показник достовірності відмінностей від групи «ЦД 2 типу + фіксація імплантатів».

Посилене розмноження умовно-патогенних бактерій в яснах щурів з ЦД 2 типу могло бути наслідком як розвитку запалення, так і зниження антимікробного захисту тканини ясен, про що свідчить зменшення активності лізоциму на 23,5% в яснах тварин 2-ї групи. Фіксація імплантатів призвела до більш вираженого зниження активності лізоциму в яснах щурів 3-ї групи (на 37,1%). Введення профілактичних препаратів тваринам 4-ї групи перед установкою імплантатів сприяло збереженню активності лізоциму на високому рівні по відношенню до показника у 2-й і 3-й групах (табл. 3.5).

Результатом зниження антимікробного захисту і збільшення контамінації умовно-патогенних бактерій в яснах щурів 2-ї групи, яким моделювали ЦД 2 типу, було збільшення ступеня дисбіозу в 2,1 рази. Це говорить про порушення мікробіоценозу в порожнині рота на фоні розвитку ЦД 2 типу. Фіксація імплантатів в щелепі щурів з ЦД 2 типу призвела до збільшення ступеня дисбіозу в 3,6 рази в порівнянні з показником в інтактній групі і в 1,7 рази по відношенню до рівня цього маркера в яснах щурів 2-ї групи з ЦД 2 типу. Профілактичні засоби, що застосовувались в 4-й групі щурів, завдяки стимуляції неспецифічного антимікробного захисту в тканинах ясен і прояву антибактеріальної дії, сприяли суттєвому зниженню ступеня дисбіозу в порожнині рота тварин, незважаючи на те, що цей показник перевищував нормальні значення (табл. 3.5).

Моделювання ЦД 2 типу за допомогою ін'єкцій протаміну викликало в яснах щурів пригнічення не тільки антимікробного захисту, але і активності антиоксидантної системи. Цей висновок зроблено на основі зменшення активності в яснах щурів 2-ї групи одного з основних ферментів цієї системи – каталази (на 14,6%), що демонструють дані таблиці 3.6. Таке зниження антиоксидантного захисту веде до інтенсифікації перекисних процесів в тканинах, що підтверджує достовірне підвищення рівня малонового діальдегіду (кінцевого продукту перекисного окислення ліпідів). Цей показник збільшився в яснах щурів 2-ї групи на 38,9%. В результаті порушення

рівноваги «антиоксиданти-оксиданти» в бік останніх індекс АПІ зменшився на 38,1% (табл. 3.6).

Установка імплантатів в щелепах щурів 3-ї групи не вплинула на активність каталази в їх яснах. Незважаючи на це, рівень МДА значно збільшився на 77,8% в порівнянні з нормальними значеннями і на 28,0% по відношенню до рівня в 2-й групі. При цьому індекс АПІ в яснах щурів 3-ї групи знизився ще істотніше (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Вплив експериментального цукрового діабету 2 типу та установки імплантатів на активність каталази, рівень малонового діальдегіду і антиоксидантно-прооксидантний індекс в яснах щурів

Групи	Показники	Активність каталази, мкат/кг	МДА, ммоль/кг	Індекс АПІ
Інтактна		$7,6 \pm 0,2$	$9,0 \pm 0,8$	$8,4 \pm 0,9$
ЦД 2 типу		$6,5 \pm 0,3$ $p < 0,01$	$12,5 \pm 0,6$ $p < 0,003$	$5,2 \pm 0,7$ $p < 0,005$
ЦД 2 типу + фіксація імплантатів		$7,2 \pm 0,4$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	$16,0 \pm 0,8$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,005$	$4,5 \pm 0,6$ $p < 0,001$ $p_1 > 0,05$
ЦД 2 типу + фіксація імплантатів + профілактика		$8,1 \pm 0,2$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	$10,4 \pm 0,6$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$	$7,9 \pm 0,8$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від інтактної групи;

p_1 – показник достовірності відмінностей від групи «ЦД 2 типу»;

p_2 – показник достовірності відмінностей від групи «ЦД 2 типу + фіксація імплантатів».

Проведення профілактичних заходів у щурів 4-ї групи з ЦД 2 типу і після фіксації імплантатів ефективно попереджало порушення балансу «антиоксиданти-оксиданти» в яснах тварин. Так, всі досліджувані параметри

цієї системи (активність каталази, вміст МДА і індекс АПИ) в яснах щурів, які отримували профілактику на фоні моделювання ЦД 2 типу та установки імплантатів, відповідали рівню у інтактних здорових тварин, що говорить про антиоксидантну ефективність компонентів запропонованого комплексу лікувально-профілактичних препаратів.

3.3 Пародонтопротекторна дія комплексу антидисбіотичних засобів при експериментальній імплантології на фоні цукрового діабету

На попередньому етапі експериментальних досліджень для порівняння з використанням нами лікувально-профілактичним комплексом у щурів при моделюванні дентальної імплантації і ЦД було проведено вивчення пародонтопротекторної дії препарату композиції антидисбіотичних засобів, що складається з пребіотика інуліну, антиоксиданта кверцетину і цитрату кальцію – активатора ряду ферментів [29, 30].

Підтвердженням розвитку експериментального ЦД у тварин було достовірне підвищення рівня глюкози в сироватці крові на 23,3% ($7,4 \pm 0,4$ ммоль/л при нормі $6,0 \pm 0,2$ ммоль/л). Після дентальної імплантації на фоні цукрового діабету рівень глюкози декілька збільшується ($7,7 \pm 0,4$ ммоль / л). У таблиці 3.7 представлені результати визначення біохімічних показників ясен, що дозволяють оцінити їх стан. Так, при моделюванні діабету достовірно збільшується активність уреазы (на 69,4%), що свідчить про збільшення мікробного обсіменіння пародонту. Мікробна забрудненість ще більше зростає після дентальної імплантації на фоні цукрового діабету (на 100%). Активність лізоциму, навпаки, достовірно знижується у щурів з ЦД (на 21,2%), що свідчить про ослаблення неспецифічного імунітету. Дентальна імплантація ще більше знижувала активність лізоциму (на 27,3%). Ступінь дисбіозу в яснах, що був розрахований за показниками активності уреазы і лізоциму, більш ніж в 2,1 рази збільшувався при моделюванні ЦД і більш ніж

в 2,7 рази після дентальної імплантації на фоні ЦД. Рівень біохімічних маркерів запалення (активність еластази і вміст МДА) достовірно зростають при діабеті: на 55,5% (для еластази) і на 40,4% (для МДА). Дентальна імплантація на фоні ЦД ще більше сприяє збільшенню рівня маркерів запалення: еластази – на 71,8% і МДА – на 79,8%. Активність антиоксидантного ферменту каталази достовірно знижується у щурів з ЦД (на 11,8%), однак відновлюється після дентальної імплантації. Індекс АПІ, що відображає баланс антиоксидантних і прооксидантних систем пародонту, достовірно знижується у щурів з ЦД (на 37,2%) і ще більше у щурів з дентальної імплантацією (на 46,5%). Що стосується вмісту гіалуронової кислоти в яснах, то її рівень істотно не змінювався ні при діабеті, ні після імплантації.

При моделюванні ЦД активність у щурів ЛФ знижувалася на 38,1%, що вказує на тенденцію до зменшення активності остеобластів. Навпаки, активність кислої фосфатази (показник активності остеокластів) істотно підвищувалася (на 60%). Дентальна імплантація на фоні ЦД мала невеликий вплив на активність фосфатаз. При ЦД в 2,6 рази знижується мінералізуючий індекс (МІ) кісткової тканини пародонту. Цей індекс залишався низьким і після дентальної імплантації [68].

При моделюванні ЦД декілька підвищувався вміст кальцію в кісткових тканинах (на 10,8%), однак після дентальної імплантації він знижувався (на 13,3%).

При моделюванні ЦД достовірно також зростала в кістковій тканині щурів активність еластази, що свідчить про розвиток запалення і підтверджує дані літератури про розвиток запально-дистрофічних процесів в пародонті при цукровому діабеті [59, 333]. Дентальна імплантація, що здійснювалася на фоні цукрового діабету, погіршувала стан пародонту за рахунок збільшення ступеня дисбіозу і запалення в яснах і не покращувала стан кісткової тканини пародонту, що порушується при ЦД. Ці дані дають підставу використовувати антидисбіотичну терапію перед дентальною імплантацією в осіб з ЦД.

Для профілактики і усунення дисбіозу використовують АДЗ, що розрізняються за механізмом своєї фармакологічної дії [81]. Серед АДЗ особливо виділяються пребіотики – речовини, що забезпечують харчування пробіотичних бактерій [59] і антиоксиданти, що мають здатність попереджати руйнівну дію на клітинні мембрани і гістогематичні бар'єри вільних радикалів та перекисів, що утворюються з них [74, 91].

Були використані наступні АДЗ: інулін з коренів цикорію (Consuora Group Waxoing S. A., Бельгія), кверцетин виробництва фірми «Merck» (ФРН) (вміст основної речовини 99,6%) і цитрат кальцію (виробництва КНР). Композиція цих АДЗ складалася з кверцетину – 1,0%, інуліну – 49% і цитрату кальцію – 50%.

Аплікації з композицією АДЗ на ясна гелю практично нормалізували в ній активність еластази і вміст МДА, а також достовірно знижували ступінь дисбіозу. Крім того, достовірно запобігали в яснах щурів падінню рівня лізоциму та індексу АПІ, а активність каталази навіть декілька збільшувалася в порівнянні з контролем. Ці результати свідчать про здатність використаної композиції АДЗ стимулювати неспецифічний імунітет і антиоксидантну систему ясен. АДЗ істотно знижували падіння активності ЛФ і МІ, та збільшували активність КФ, а також повністю запобігали запаленню в кістковій тканині пародонту. Вміст кальцію в кістковій тканині пародонта щурів достовірно зростав при цьому.

Таким чином, аплікації гелю з композицією АДЗ в тканинах пародонта щурів при моделюванні імплантації і ЦД 2 типу запобігали зниженню рівня неспецифічного імунітету та антиоксидантного захисту, мали протизапальну і антидисбіотичну дію і суттєво збільшували ступінь мінералізації кісткової тканини пародонту.

3.4 Процеси ремоделювання кісткової тканини у щурів при ортопедичному та ортодонтичному втручанні на фоні метаболічних порушень

Для порівняння з процесами остеогенеза і репаративної регенерації, яка відбувається при дентальній імплантації і метаболічних порушеннях, нами також розглядалися процеси ремоделювання кісткової тканини у щурів і при ортодонтичному втручанні.

Цілий ряд взаємопов'язаних порушень вуглеводного і жирового обміну, а також механізмів регуляції артеріального тиску і функцій ендотелію, в основі яких лежить інсулінорезистентність, називають метаболічними порушеннями. Їх поширеність в популяції сягає 20%, а у віці старше 60 років – більше 40%. Наявність метаболічних порушень збільшує також ризик розвитку генералізованого ураження тканин пародонта. Поширеність і ступінь тяжкості запальних захворювань пародонту при метаболічних порушеннях вище, ніж без даної патології.

При метаболічному синдромі і різних його складових в організмі спостерігаються порушення обміну речовин, перекисного окислення ліпідів, трофіки кісткових тканин, остеопороз і остеоліз, порушення резистентності організму, вторинний імунодефіцит і аутоагресія [109, 233]. Викликає тривогу те, що ознаки МС все частіше зустрічаються у дітей і підлітків [76, 147].

Ендокринно-метаболічний синдром може істотно впливати на процес ремоделювання кістки при проведенні і ортодонтичного лікування, що пояснюється зменшенням остеобластичної активності і посиленням апоптозу остеобластических клітин [182, 288]. При МС спостерігаються також суттєві порушення біохімічних показників тканин пародонта, що не може не впливати на процес ортодонтичного переміщення зубів.

Нами була проведена також оцінка біохімічних показників кісткової тканини щелеп щурів при моделюванні МС і переміщення зубів на фоні лікувально-профілактичних заходів.

Результати біохімічного аналізу показників, що характеризують процеси мінералізації кісткової тканини щелеп щурів з МС, наведені в таблиці 3.7.

Таблиця 3.7

Вміст кальцію, білка і активність лужної фосфатази в кісткових тканинах щелеп щурів при моделюванні метаболічного синдрому, ортодонтичного переміщення зубів і проведення лікувально-профілактичних заходів

Групи щурів	Вміст кальцію, моль/кг	Вміст білка, г/кг	Активність ЛФ, мк-кат/кг
Інтактна n=7	2,38 ± 0,12	17,76 ± 1,01	160,3 ± 15,9
Модель МС n=7	2,05 ± 0,07 p = 0,05	16,44 ± 0,91 p > 0,05	106,5 ± 10,8 p < 0,05
Модель МС + ортодонтичне лікування n=7	2,11 ± 0,06 p > 0,05 p ₁ > 0,05	18,12 ± 1,77 p > 0,05 p ₁ > 0,05	114,3 ± 12,0 p < 0,05 p ₁ > 0,05
Модель МС + ортодонтичне лікування + ЛПК n=7	2,34 ± 0,08 p > 0,05 p ₁ < 0,05 p ₂ = 0,05	14,80 ± 1,74 p > 0,05 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05	161,9 ± 11,8 p > 0,05 p ₁ < 0,01 p ₂ < 0,05

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від інтактної групи

p₁ – показник достовірності відмінностей від групи «Модель МС»;

p₂ – показник достовірності відмінностей від групи «Модель МС + ортодонтичне лікування».

Тривалий аліментарний надлишок жиру в поєднанні з дисбіозом та пригніченням імунітету викликав негативні зміни в метаболізмі кісткової тканини щелеп тварин. Так, активність лужної фосфатази в кістковій тканині зменшилася при цьому в 1,5 рази, вміст кальцію зменшилася на 13,9%. Рівень білка при цьому істотно не змінився. Зниження активності ЛФ, маркера

остеобластів, поряд зі зменшенням рівня кальцію в кістковій тканині, свідчить про пригнічення у тварин процесів остеогенезу при моделюванні МС.

Фіксація ортодонтчних пружин істотно не вплинула на показники остеогенезу в щелепах тварин. Активність лужної фосфатази, вміст кальцію і білка були такими ж, як у кістковій тканині щелеп щурів 2-ї групи.

Введення щурам 4-ї групи комплексу профілактичних препаратів запобігало зниження активності ЛФ і, завдяки цьому, зберігало нормальний рівень кальцію в кістковій тканині щелеп щурів з МС (табл. 3.7).

Поряд зі зниженням інтенсивності мінералізації кісткової тканини щелеп, МС викликає активацію процесів резорбції, причому як мінерального компонента (активність кислої фосфатази), так і білкової матриці (активність еластази). Результати цього дослідження узагальнені в таблиці 3.8.

Таблиця 3.8

Активність еластази і кислої фосфатази в кісткових тканинах щелеп щурів при моделюванні метаболічного синдрому, ортодонтчного переміщення зубів і проведення лікувально-профілактичних заходів

Групи щурів	Активність еластази, мк-кат/кг	Активність КФ, мк-кат/кг	Індекс мінералізації ЛФ/КФ
1	2	3	4
Інтактна n=7	6,16 ± 0,89	3,87 ± 0,29	41,4 ± 3,9
Модель МС n=7	8,34 ± 0,97 p < 0,05	6,12 ± 0,54 p < 0,005	17,4 ± 1,6 p < 0,001
Модель МС + ортодонтчне лікування n=7	10,07 ± 1,81 p = 0,05 p ₁ > 0,05	9,25 ± 1,48 p < 0,001 p ₁ > 0,05	12,3 ± 0,9 p < 0,001 p ₁ < 0,05

Продовження табл. 3.8

1	2	3	4
Модель МС + ортодонтичне лікування + ЛПК n=7	7,56 ± 0,95 p > 0,05 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05	4,81 ± 0,36 p = 0,05 p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,01	33,7 ± 2,8 p > 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від інтактної групи

p₁ – показник достовірності відмінностей від групи «Модель МС»;

p₂ – показник достовірності відмінностей від групи «Модель МС + ортодонтичне лікування».

Так, при моделюванні МС в кістковій тканині щелеп щурів 2-ї групи активність еластази підвищилася на 35,4%, а кислій фосфатази - на 58,1%, в результаті чого індекс мінералізації (ЛФ / КФ) в кістковій тканині знизився в 2,4 рази.

Ортодонтичне лікування призвело до більш вираженого підвищення активності еластази (на 63,5%) у порівнянні з показником в інтактній групі, а також кислій фосфатази – (на 139,0%) по відношенню до інтактних тварин. Індекс мінералізації в щелепах щурів 3-ї групи знизився в 3,4 рази.

Профілактичний комплекс ефективно попереджав підвищення активності деструктивних ферментів кісткової тканини (еластази і КФ). Активність еластази в кістковій тканині щелеп щурів, яким моделювали МС і ортодонтичне лікування із застосуванням комплексу препаратів, відповідала значенням у тварин інтактної групи. Активність КФ в кісткових тканинах, незважаючи на те, що її рівень перевищував нормальні показники, достовірно знизилася після застосування профілактичного комплексу. Завдяки оптимізації активності кісткових фосфатаз в щелепах щурів 4-ї групи індекс мінералізації істотно збільшився, хоча і не досяг норми (табл. 3.8).

Останнім часом все більшого значення в патогенезі та розвитку клінічних симптомів різних видів патології надається недостатності і дисбалансу макро- і мікроелементів.

Одним з основних макроелементів в організмі людини є магній, який займає четверте місце в хімічному складі організму людини після натрію, калію і кальцію. Загальний вміст магнію в організмі досягає 25 г, причому поряд з калієм, він є основним внутрішньоклітинним катіоном [33].

Магній відіграє мало вивчену, але значну роль в енергетичному, пластичному і електролітному видах обміну – він є регулятором клітинного росту, необхідним на всіх етапах синтезу білкових молекул. Зокрема, від наявності достатньої кількості магнію в організмі залежить нормальне функціонування рибосом і зв'язування з ними інформаційної РНК – ключового ферменту біосинтезу білка. Крім того, магній бере участь в обміні фосфору, регуляції гліколізу, побудові кісткової тканини [140]. Магній є обов'язковим кофактором багатьох ферментів, які регулюють різні функції організму, такі як вуглеводний обмін, регуляцію, зберігання і вивільнення енергії в АТФ, зниження збудження в нервових клітинах, розслаблення серцевого м'яза, забезпечення проникності мембран і регуляція трансмембранної циркуляції іонів, істотно впливають на кістковий метаболізм. На даний час доведена роль нестачі в організмі магнію при розвитку серцево-судинної, ендокринної, психоневрологічної патології, при порушеннях ліпідного обміну.

Нами було проведено також вивчення впливу магнію на стан метаболізму міжклітинного матриксу сполучної тканини пародонту щурів, його пародонтопротекторної і протизапальної дії при моделюванні МС.

Моделювання МС призвело до значного збільшення маси щурів і окружності живота в середній частині тулуба. Вітамінно-мінеральний комплекс за 70 днів експерименту знизив масу щурів на 8% і масу яєчок з жиром на 17,5% в порівнянні з групою «Модель МС».

У сироватці крові щурів комплекс знижував в порівнянні з групою «модель МС» рівень тригліцеридів в 1,36 раз, холестерину – в 1,14 раз,

глюкози – 2,4 рази, сечової кислоти – в 1,7 рази, активність АЛТ – в 2 рази і АсАТ – в 2 рази і збільшував вміст ЛПВЩ в 1,6 рази (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Вплив комплексу «Магній активний» на біохімічні показники сироватки крові щурів ($M \pm m$; p ; p_1)

Показники	Групи тварин		
	інтактна	модель МС	МС+«Магній активний»
Вміст: -тригліцеридів (ммоль/л)	1,53±0,03	2,22±0,02 $p < 0,001$	1,63±0,02 $p = 0,016$ $p_1 < 0,001$
-холестерину (ммоль/л)	5,31±0,09	6,31±0,03 $p < 0,001$	5,51±0,03 $p_1 < 0,001$
-ЛПВП (ммоль/л)	4,04±0,18	1,69±0,05 $p < 0,001$	2,65±0,08 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
-глюкози (ммоль/л)	2,32±0,07	5,20±0,07 $p < 0,001$	2,40±0,02 $p_1 < 0,001$
-сечової кислоти (мкмоль/л)	258±4,13	467±6,90 $p < 0,001$	275±3,51 $p = 0,011$ $p_1 < 0,001$
Активність: -АЛТ (ммоль/Г·л)	1,42±0,16	3,09±0,13 $p < 0,001$	1,55±0,022 $p_1 < 0,001$
-АсАТ (мкмоль/Г·л)	0,53±0,010	0,81±0,011	0,61±0,014 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$

Примітка: p – показник достовірності ввідмінностей від інтактною групи;

p_1 – показник достовірності ввідмінностей від групи «Модель МС».

Крім того, комплекс «Магній активний» в процесі експерименту знижував в порівнянні з групою «Модель МС» на 15% резорбцію кісткової тканини пародонту (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Вплив комплексу «Магній активний» на стан зубощелепної системи щурів ($M \pm m$; p)

Показники	Групи тварин	
	модель МС	МС+«Магній активний»
Резорбція кістки альвеолярного відростка (%):		
нижня щелепа	36,2±1,3	31,4±0,9 p=0,013
верхня щелепа	27,4±1,7	22,8±1,7 p=0,09
середні значення	31,8±1,5	27,1±1,3 p=0,04
Резорбція кістки альвеолярного відростка (%):		
нижня щелепа	36,2±1,3	31,4±0,9 p=0,013
верхня щелепа	27,4±1,7	22,8±1,7 p=0,09
середні значення	31,8±1,5	27,1±1,3 p=0,04
Число каріозних уражень (в середньому на 1 щура)	2,7±0,2	2,5±0,5 p>0,05
Глибина уражень зубів карієсом (в балах)	3,0±0,3	2,6±0,6 p>0,05

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від групи «Модель МС».

В таблиці 3.11 представлені результати впливу комплексу «Магній активний» на стан мінерального обміну в кістковій тканині пародонта щурів.

Таблиця 3.11

Вплив комплексу «Магній активний» на стан мінерального обміну в кістковій тканині пародонта щурів (M±m; p)

Показники	Групи тварин	
	модель МС	МС+«Магній активний»
Активність ЛФ (нмоль/с·г)	330±2,90	380±15,4 p=0,012
Вміст кальцію (ммоль/г)	0,32±0,0015	0,49±0,015 p<0,001
Вміст фосфору (ммоль/г)	1,10±0,080	2,04±0,090 p<0,001

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від групи «Модель МС».

У кісткових тканинах альвеолярного відростка щурів під дією комплексу також знижувалася вдвічі активність КФ, що узгоджується зі зменшенням у них процесів резорбції, та активність еластази – на 26% (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Вплив комплексу «Магній активний» на маркери остеогенезу в кісткових тканинах пародонта щурів (M±m; p)

Показники	Групи тварин	
	модель МС	МС+«Магній активний»
Активність КФ (нкат/г)	24,4±1,82	11,8±4,00 p=0,03
Активність еластази (мкат/кг)	0,27±0,036	0,20±0,0075 p=0,08

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від групи «Модель МС».

У таблиці 3.13 представлені результати впливу комплексу на стан сполучної тканини пародонту щурів.

Таблиця 3.13

Вплив комплексу «Магній активний» на стан міжклітинної матриксу сполучної тканини пародонту і сироватки крові щурів ($M \pm m$; p)

Показники \ Групи тварин	Модель МС	МС+« Магній активний»
1	2	3
	сироватка крові	
Вміст: -сіалових кислот (ммоль/л)	2,50±0,05	1,73±0,04 $p < 0,001$
	слизова оболонка порожнини рота	
Вміст: -ГАГ (мг/г)	0,35±0,010	0,77±0,008 $p < 0,001$
-оксипроліну (мкмоль/г) -вільного	346±14,2	340±6,80
-зв'язного	60,0±3,50	82,0±11,4 $p = 0,10$
-загального	406±10,6	422±4,50
-магнію (ммоль/г)	0,74±0,020	0,72±0,017
	кістка альвеолярного відростка	
Вміст: -ГАГ (мг/г)	0,38±0,096	0,79±0,008 $p = 0,006$
оксипроліну (мкмоль/г) - вільного	265±3,50	267±31,0
- зв'язного	32,3±6,00	56,0±4,00 $p = 0,01$

Продовження табл. 3.13

1	2	3
- загального	297±14,0	323±6,00 p=0,11
- магнію (ммоль/г)	0,011±0,0017	0,028±0,0006 p<0,001

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від групи «Модель МС».

Отримані результати свідчать про те, що комплекс «Магній активний» за 70 днів дослідження збільшував вміст глікозаміногліканів в слизовій оболонці порожнини рота і кістки альвеолярного відростка щурів в 2,2 рази і в 2,1 рази відповідно (табл.3.13). Комплекс позитивно вплинув на стан колагену тканин пародонта тварин. Так, в слизовій оболонці порожнини рота і в кістковій тканині пародонта збільшувався рівень пов'язаного оксипроліна. Рівень загального оксипроліну також мав тенденцію до збільшення. Вміст іонів магнію в даному об'єкті дослідження збільшувався в 2,5 рази. Вміст сіалових кислот в сироватці крові знижувався в 1,4 рази, що говорить про відновлення глікопротеїнів міжклітинної матриксу сполучної тканини під дією комплексу.

Про антиоксидантні властивості комплексу «Магній активний» свідчило і зниження в дослідній групі щурів вмісту перекисних продуктів, реєстрованих за рівнем МДА. У сироватці крові щурів рівень МДА знижувався на 24%, а активність ГПО збільшувалася вдвічі (табл. 3.14).

У слизовій оболонці порожнини рота тварин комплекс достовірно не змінював вміст малонового діальдегіду і активність антиоксидантних ферментів (табл. 3.14).

Таблиця 3.14

Вплив комплексу «Магній активний» на вміст МДА і активність антиоксидантних ферментів в крові і тканинах пародонта щурів (M±m; p)

Показники Групи тварин	Вміст МДА (нмоль/г)	Активність каталази (мкат/мл; мкат/г)	Активність ГПО (мкмоль/с·мл; мкмоль/с·г)
	сироватка крові		
Модель МС	5,80±0,30	4,47±1,23	1,21±0,70
МС+«Магній активний»	4,59±0,28 p=0,015	3,36±0,39 p>0,05	2,54±0,12 p=0,09
	слизова оболонка порожнини рота		
Модель МС	54,70±5,81	65,50±7,23	74,0±12,6
МС+«Магній активний»	57,50±1,92 p>0,05	51,80±3,95 p>0,05	81,00±2,40 p>0,05
	кістка альвеолярного відростка		
Модель МС	4,64±0,07	9,96±1,23	30,70±5,52
МС+«Магній активний»	3,90±0,09 p<0,05	13,50±0,10 p<0,05	61,50±5,05 p<0,01

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від групи «Модель МС».

В кістці альвеолярного відростка, на відміну від м'яких тканин пародонта, комплекс знижував рівень перекисних продуктів на 16% і збільшував активність каталази на 36%, а ГПО в 2 рази.

Висновки до розділу 3:

– Дослідження сироватки крові щурів показало, що розвиток цукрового діабету 2 типу при його моделюванні під впливом ін'єкцій протаміну веде до наявності гіперглікемії, зниження неспецифічного

антимікробного і антиоксидантного захисту організму і, як наслідок, до інтенсифікації системного запалення, активації перекисного окислення ліпідів і розвитку бактеріємії. Установка імплантатів на верхню щелепу тварин з ЦД 2 типу практично не вплинула на рівень глюкози і інтенсивність системного запалення, але призвела до більшого зниження факторів неспецифічної резистентності (активності каталази і лізоциму) з одночасним збільшенням ступеня бактеріємії, генералізованого дисбіозу і активації перекисного окислення ліпідів.

– Проведення профілактичних заходів за запропонованою схемою ефективно попереджало зареєстровані порушення в сироватці крові тварин з ЦД 2 типу і після установки імплантатів. За допомогою комплексу препаратів вдалося стабілізувати рівень глюкози і малонового діальдегіду, активність еластази та уреаз, ступінь дисбіозу, а також зберегти на високому рівні показники неспецифічного захисту – активність каталази і лізоциму в сироватці крові щурів, яким встановлювали імпланти на фоні моделювання ЦД 2 типу.

– В результаті проведеного біохімічного аналізу ясен експериментальних тварин можна зробити висновок, що розвиток цукрового діабету 2 типу індукує зниження неспецифічного антимікробного і антиоксидантного захисту тканин ясен, що, в свою чергу, призводить до розвитку запалення, збільшення проникності слизової оболонки, посилення контамінації ясен умовно патогенними бактеріями, активації ПОЛ в порожнині рота щурів.

– Фіксація в щелепах щурів імплантатів в умовах моделювання цукрового діабету 2 типу призвела до більш значного пригнічення антимікробного захисту (активності лізоциму) і інтенсифікації запалення і перекисного окислення ліпідів, підвищення ступеня дисбіозу в яснах за рахунок кількісного збільшення умовно-патогенної мікробіоти в ротовій порожнині тварин. При цьому установка імплантатів не вплинула на

активність антиоксидантної системи (активність каталази) і рівень гіалуронової кислоти в яснах щурів.

– При моделюванні цукрового діабету 2 типу в пародонті експериментальних щурів розвивався дисбіоз, запалення і знижувалася мінералізуюча активність кісткової тканини.

– Дентальна імплантація на фоні цукрового діабету поглиблювала дисбіоз і запалення в яснах у тварин і погіршувала стан кісткової тканини.

– Оральні аплікації гелю з композицією антидисбіотичних засобів (кверцетин + інулін + цитрат кальцію) в значній мірі запобігали зниженню рівня неспецифічного імунітету та антиоксидантного захисту, зменшували ступінь дисбіозу і запалення та збільшували мінералізованість кісткової тканини пародонту тварин.

– Проведені для порівняння із ортопедичним втручанням дослідження кісткової тканини щелеп щурів при моделюванні МС і ортодонтичного лікування дозволяють зробити висновок про пригнічення, як і при ортопедичному лікуванні, процесів мінералізації та одночасної активації резорбційних процесів, індукованих розвитком метаболічного синдрому. Ортодонтичне втручання на фоні метаболічного синдрому не вплинуло на інтенсивність мінералізації, але істотно посилило деструктивні процеси в кістковій тканині щелеп експериментальних тварин. Запропонований лікувально-профілактичний комплекс і в цьому випадку ефективно попереджав метаболічні порушення в кістковій тканині щурів, що були викликані моделюванням метаболічного синдрому і фіксацією ортодонтичних пружин. Тобто наявність такої патології як МС ускладнювало процеси не тільки ортопедичного лікування, при якому погіршувалась інтеграція імплантатів в кісткових тканинах, а і ортодонтичного переміщення зубів при лікуванні ЗЩА.

– Проведені дослідження показали, що вітамінно-мінеральний комплекс «Магній активний», що перорально вводився щурам протягом 70

днів в умовах моделювання метаболічного синдрому, викликав відновлення рівня загального холестерину і глюкози, поліпшення функціонального стану печінки в порівнянні з групою «Модель МС». Крім того, комплекс значно знижував у щурів в сироватці крові вміст тригліцеридів, сечової кислоти, рівень холестерину і збільшував рівень ліпопротеїнів високої щільності. В умовах моделювання метаболічного синдрому комплекс відновлював колаген і глікопротеїни міжклітинного матриксу сполучної тканини пародонту. Комплекс виявляв антиоксидантні властивості і поліпшував мінеральний обмін, в результаті чого знижувалася резорбція кісткової тканини пародонту.

– Але розроблений нами патогенетично обґрунтований лікувально-профілактичний комплекс (табл. 2.1) мав більш виражений і широкий спектр можливостей. Проведені дослідження показали його високу профілактичну протизапальну, антиоксидантну та антимікробну ефективність.

Матеріали розділу опубліковані в працях [3-6, 11, 12], наведених у додатку А.

РОЗДІЛ 4 МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА СТАНУ ТКАНИН РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ЩУРІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ОРТОПЕДИЧНОГО ВТРУЧАННЯ НА ФОНІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

4.1 Патологічні зміни в слизовій оболонці і судинах мікроциркуляторного русла порожнини рота щурів при моделюванні цукрового діабету

Цукровий діабет і його складові призводять в організмі до багатьох патологічних процесів. При цьому мають місце порушення жирового і вуглеводного обміну, кісткового метаболізму, судинні порушення, що призводять до запально-дистрофічних процесів, в тому числі, і в порожнині рота, що істотно може впливати і на процес ортопедичного лікування пацієнтів із використанням імплантатів [42, 47, 58, 93, 113, 146].

В експерименті була проведена оцінка морфологічних порушень в порожнині рота щурів при моделюванні ЦД 2 типу [121, 122, 123].

Після виведення тварин з експерименту проводилося морфологічне дослідження. У всіх досліджуваних групах тварин вивчалися особливості стану мікроциркуляторного русла, стан кісткової тканини, особливості перебігу репаративних процесів в тканинах ясен і кісткових тканинах.

Забарвлення гематоксиліном і еозином використовувалося в даному випадку для вивчення стану структур ротової порожнини, мікроархітекtonіки тканин у всіх досліджуваних групах, визначення особливостей клітинного складу, взаєморозташування різних клітин, волокон, васкуляризації тканини. Крім того, даний спосіб забарвлення допомагає ідентифікувати не тільки кількісний склад клітин, особливості їх локації, а й якісний їх склад. Забарвлення за ван Гізоном використовувалося для виявлення особливостей будови елементів сполучної тканини, визначення особливостей патологічного процесу. З цією ж метою використовувалося модифіковане забарвлення за

Малорі, що дозволяє визначити взаєморозташування колагенових, еластичних і ретикулярних волокон і міжклітинної речовини. Забарвлення за Рего проводилося для виявлення зон ішемії, що важливо для розуміння особливостей васкуляризації.

Імуногістохімічне дослідження проводили постановкою непрямой імунопероксидазної реакції з моноклональними антитілами до VEGF, BAX фірми Thermo scientific. Реакція візуалізувалася за допомогою набору UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen (Thermo scientific) з дофарбовуванням ядер гематоксилином Майєра. Характеристика відібраних для імуногістохімічного дослідження моноклонів представлена в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

**Характеристика відібраних для імуногістохімічного дослідження
моноклонів**

Моноклон	Характеристика
VEGF	фактор росту ендотелію судин, сигнальний білок, що виробляється клітинами для стимулювання васкулогенезу (утворення ембріональної судинної системи) і ангіогенезу (рост нових судин в уже існуючій судинній системі)
BAX	активатор апоптозу, збільшує його відкриття мітохондріального потенціал-залежного аніонного каналу, що призводить до втрати мембранного потенціалу і визволенню цитохрому С

Ступінь експресії рецепторів VEGF і BAX оцінювали напівкількісним методом, вважаючи реакцію в 1 бал негативною, 2 бали – слабкопозитивною (1% <n <10%), 3 бали – помірнопозитивною (11% <n <20%) і 4 бали –

сильнопозитивною ($n > 21\%$), що дозволяло виявляти кореляційні взаємозв'язки між досліджуваними компонентами.

Інтактна група. При огляді ротової порожнини тварин інтактної групи, яким не проводилися будь-які маніпуляції чи методи лікування, виявлено, що слизова оболонки була блідо-рожева, волога, чиста, без крововиливів, при доторканні шпателем не кровоточила.

При гістологічному дослідженні було виявлено, що ротова порожнина щурів на більшому своєму проміжку покрита багатошаровим плоским неороговіваючим епітелієм і лише в області маргінальної і альвеолярної поверхні ясен визначались ділянки ороговіваючого епітелію (рис 4.1).

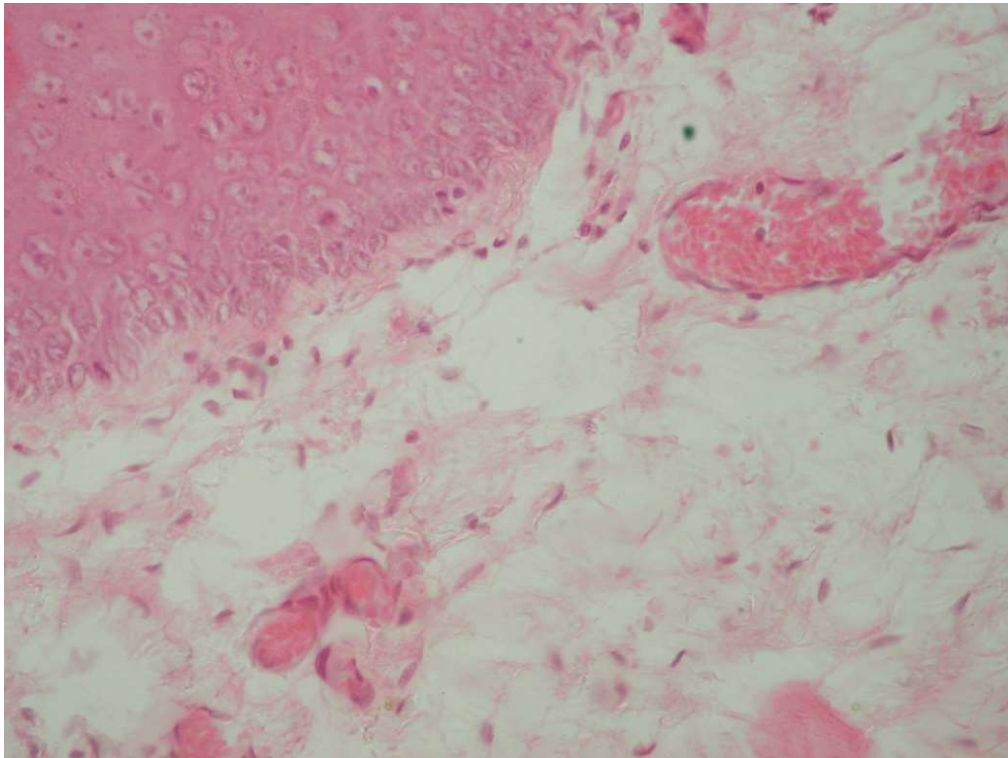


Рис. 4.1. Слизова тварин інтактної групи. Рівномірне розташування клітин епітеліального пласта без патологічних змін. Вертикальне розташування клітин базального шару. Відсутність клітин запальної природи у власній пластинці слизової оболонки. Тонкостінні судини мікроциркуляторного русла рівномірного кровонаповнення. Наявність у власній пластинці слизової пухкої сполучної тканини. Забарвлення гематоксилином і еозином. Збільшення x400.

Всі шари епітеліального пласта були виражені в достатній мірі, межі між ними були чіткі, добре візуалізувалися. Процеси кератинізації були виражені незначно [25].

Клітини зернистого шару були розташовані в 3-4 ряди, мали ромбоподібну форму, невелику кількість зерен кератогіаліну в цитоплазмі. Форма клітин шиповидного шару залежала від їх локації. У поверхневих шарах вони були веретеноподібними, сплюсненими, горизонтально орієнтованими. Іноді спостерігалися явища пікнозу. Цитоплазма візуалізувалася у вигляді тонкого, базофільного, добре забарвленого контуру. У міру просування до базальної мембрани клітини змінювали свою орієнтацію з горизонтальної на вертикальну, збільшувався їх розмір за рахунок збільшення об'єму як цитоплазми, так і ядра. Форма їх змінювалася на поліедричну, ядра були гіперхромними, цитоплазма була базофільною. Базальні епітеліоцити були представлені клітинами округлої форми з великим гіперхромними ядрами, помірно базофільною цитоплазмою, що розташовувалися на базальній мембрані.

Особливу увагу привертає епітелій зубоясневої кишені. З боку зуба тут не простежувався зернистий шар, а клітини шиповатого шару були дещо зменшені в розмірах порівняно з такими, що знаходяться в інших ділянках слизової оболонки. Ознак погружного росту епітелію у тварин досліджуваної групи не визначалась. Власна пластинка представлена еластичними волокнами без будь-яких ознак їх деструктивних змін. Вона складалася з сосочкового шару і сітчастого шару. При дослідженні сосочкового шару було виявлено, що він представлений пухкою волокнистою сполучною тканиною. Запальні інфільтрати були практично відсутні, подекуди зустрічались поодинокі клітинні елементи (лімфоцити, фібробласти). Еластичні волокна, що визначаються в сосочковому шарі, були без ознак деструкції.

Сітчастий шар був представлений тонкими ретикулярними волокнами, які часто анастомізували між собою, розгалужувалися і утворювали мережу, розташовану на поверхні сітчастого шару (рис 4.2).

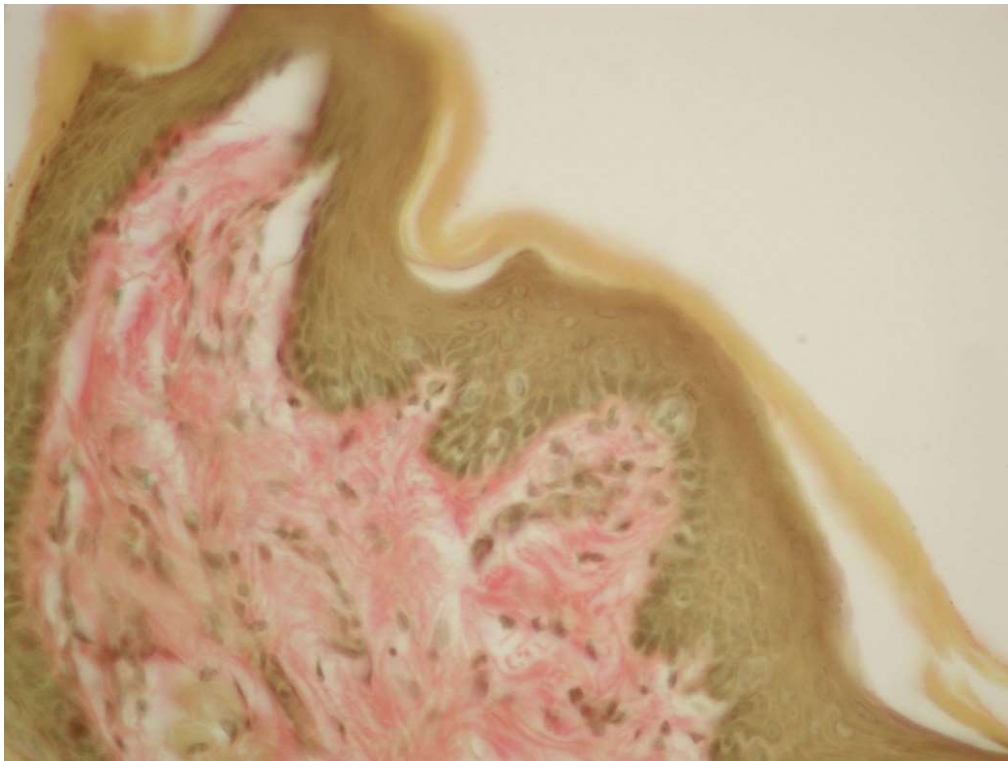


Рис. 4.2. Власна пластинка слизової тварин інтактної групи. Відсутність запальних інфільтратів. Наявність у власній пластинці слизової пухкої сполучної тканини, представленої тонкими ретикулярними волокнами. Забарвлення за ван Гізоном. Збільшення x200.

При фарбуванні за Рего зони ішемії не виявлялися ні в епітелії, ні у власній пластинці слизової (рис 4.3).

Базальна мембрана і мережа строми представлені тонкими, ніжними і звитими ретикулярними волокнами.

Важливим показником відсутності шкідливого чинника була слабкопозитивна реакція на активатор апоптозу ВАХ (рис. 4.4), який збільшує відкриття мітохондріального потенціал-залежного аніонного каналу, що призводить до втрати мембранного потенціалу і вивільненню цитохрома С.



Рис. 4.3 Епітелій і власна пластинка слизової тварин інтактної групи.
Відсутність запальних інфільтратів і осередків ішемії. Збарвлення за Рего.

Збільшення x400

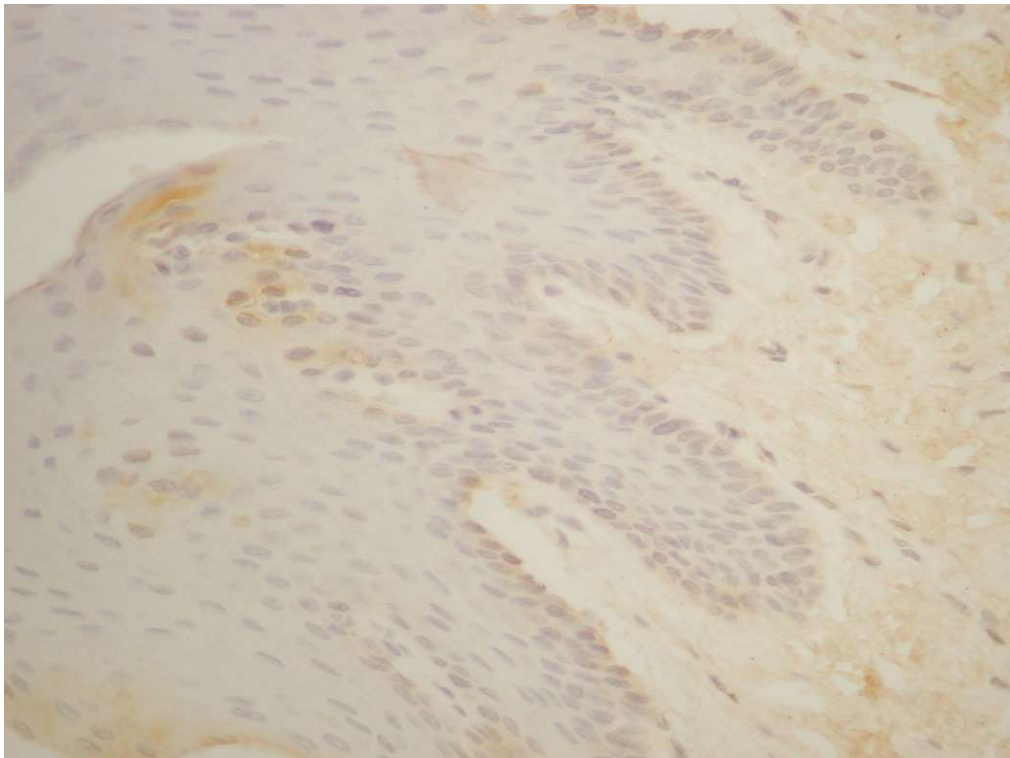


Рис. 4.4. Слабкопозитивна реакція на активатор апоптозу ВАХ. Пероксидазна реакція з МКА до ВАХ. Збільшення. x400

Клітинний склад власної пластинки також відрізнявся своєю одноманітністю. Він був представлений переважно гістиоцитами, лімфоцитами, макрофагами, поодинокими фібробластами з переважанням зрілих форм. Слід зазначити, що всі клітинні елементи були розташовані одинично, не утворюючи скупчень і інфільтратів. У міру віддалення в більш глибоких шарах слизової оболонки ротової порожнини при фарбуванні за ван Гізоном визначалися фуксинофільні колагенові волокна, які утворювали пучки невеликих розмірів, локалізовані в глибоких шарах власної пластинки.

Визначалося помірне повнокров'я судин мікроциркуляторного русла. Всі судини рівномірно були розподілені по поверхні сосочкового шару власної пластинки, утворюючи мережу, часто анастомізували між собою. Судинна стінка була не змінена, без ознак набряку і інфільтрації, периваскулярний простір не був змінений. Тромботичні маси в просвіті судин були відсутні. Як і в інших групах тварин, було проведено морфометричне дослідження судин МЦР.

При постановці пероксидазної реакція до VEGF встановлено, що патерном експресії рецепторів даного білка виступають цитоплазма, клітинна мембрана і складові міжклітинного матриксу. ДАБ-позитивний компонент клітини (досліджений білок) опинявся у вигляді внутрішньоклітинних скупчень.

Власна пластинка слизової оболонки ясен при цьому забарвлювалася позитивно, нерівномірно з найбільшим розташуванням в області клітинних структур.

При проведенні морфометричних досліджень встановлено, що діаметр артеріол в даній підгрупі становить $22,68 \pm 0,54 \times 10^{-6}$ м, прекапілярних артеріол $13,03 \pm 1,02 \times 10^{-6}$ м, капілярів $7,65 \pm 0,47 \times 10^{-6}$ м, посткапілярних венул $27,44 \pm 1,63 \times 10^{-6}$ м, венул $47,03 \pm 0,31 \times 10^{-6}$ м.

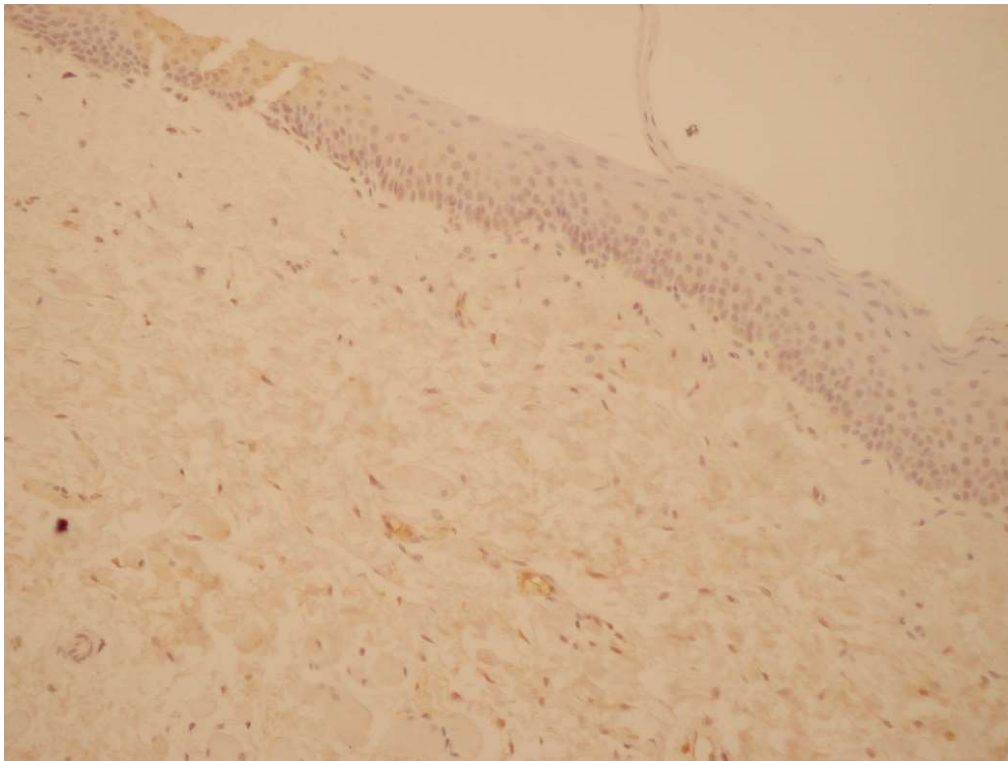


Рис. 4.5. Розподіл судинного фактора росту у власній пластинці слизової оболонки. Пероксидазна реакція з МКА до VEGF. Збільшення. x200.

Трабекули формуючої губчастої речовини також були не однорідні, місцями потовщені. Останнє більшою мірою характерно для поверхневих шарів, що лежать безпосередньо під сполучно-тканинним покриттям. Міжбалочний простір заповнений ніжноволокнистою сполучною неоформленою тканиною, місцями в препаратах, забарвлених гематоксиліном і еозином, нагадував незрілу сполучну тканину регенераторного типу, що більш чітко спостерігається в препаратах, забарвлених за Малорі (рис. 4.6). У більш поверхневих шарах виявлялась гістологічна будова, яка відповідала явищам фіброзу.

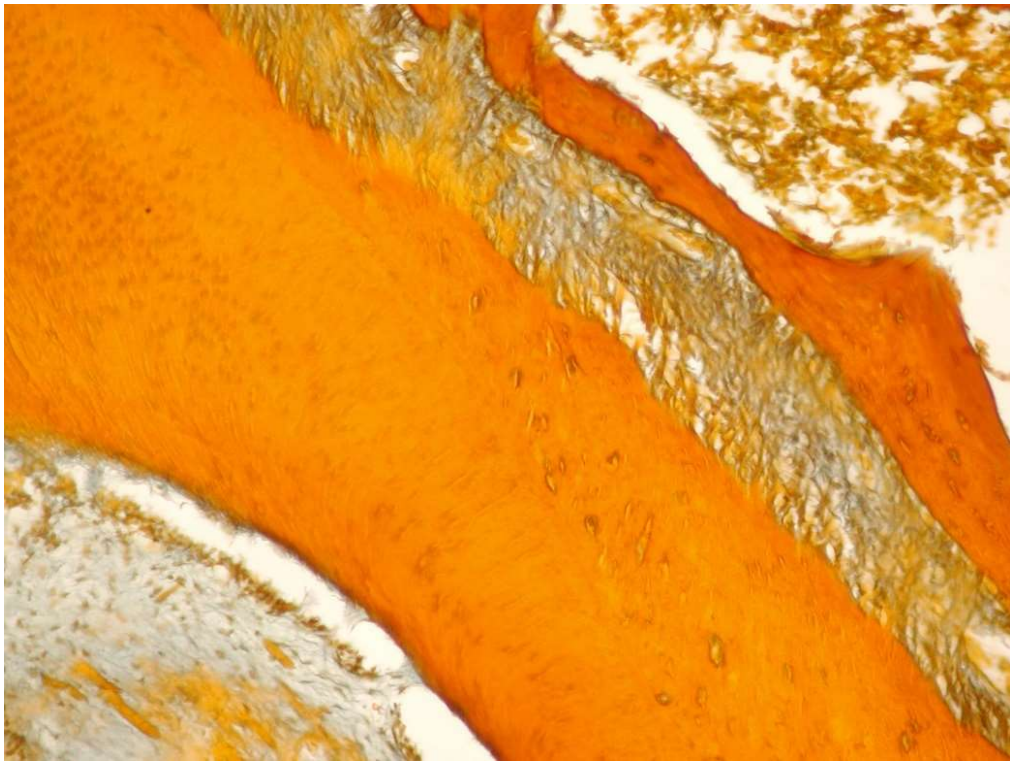


Рис. 4.6. Періодантальний простір з наявністю зв'язки і кісткової тканини.

Наявність в міжбалочному просторі ніжноволокнистлі сполучної неоформленої тканини в зоні компактної будови кістки. Забарвлення за Малорі. Збільшення x200

Кістково-деструктивні процеси не були виражені. Трабекули губчастої кісткової тканини були добре виражені, ділянки западання не спостерігалися на їх поверхні. Визначалися одиничні функціонально неактивні остеокласти. Остеобласти були розташовані переважно в окісті, були активними, містили гіперхромні ядра і базофільну цитоплазму. Запальні інфільтрати не визначались.

Остеони пластинчастої кісткової тканини виражені добре, гаверсові канали були в достатній мірі, судини були звичайного кровонаповнення, без тромботичних мас в просвіті. Запальні інфільтрати не візуалізувалися, клітинні елементи були поодинокі і представлені гістіоцитами, лімфоцитами.

При дослідженні групи тварин, яким був змодельований цукровий діабет без подальшої установки імплантатів і лікування, були виявлені

патологічні зміни з боку слизової оболонки, підслизового шару і судин мікроциркуляторного русла.

При огляді спостерігалася блідість слизової оболонки порожнини рота, зберігалася її вразливість при доторканні шпателем. Однак, визначалися лише поодинокі фокуси ерозивних дефектів, невеликі ділянки петехіальних крововиливів, подекуди виразкові дефекти. Слизова була стоншеною, сухою.

Слизова порожнини рота була покрита багатошаровим плоским неороговіваючим епітелієм, в області ясен – ороговіваючим.

При вивченні гістологічних препаратів, забарвлених гематоксиліном і еозином, визначалось нерівномірне потовщення епітеліального пласта. Явища гіперкератозу були помірно виражені нерівномірно по всій поверхні епітелію. Клітини зернистого шару були звичайних розмірів, розташовані в 3-4 ряди, мали ромбоподібну форму, містили підвищену кількість зерен кератогіаліну в своїй цитоплазмі. Зерна місцями зливалися і субтотально заповнювали клітину. Клітини шиповатого шару були сплюснені, місцями, ближче до базального шару, зустрічалися і великі, поліедричні клітини з округлими гіперхромними ядрами і базофільною цитоплазмою. У цитоплазмі візуалізувалися вакуолі, що досягали великих розмірів, відтісняючи ядро на периферію. Цитоплазма клітин була базофільною, ядра гіперхромними. Слабкопозитивна PAS-реакція була більше виражена в шипуватому шарі.

Виявлені ознаки, які характерні для дистрофічних та проліферативних процесів, слід розглядати як відправні для вивчення тварин наступних досліджуваних груп. Так, дистрофічні процеси були визначені в області зубоясневої кишені і проявлялися витонченням шиповатого і рогового шару на фоні збільшення рогового шару. Дистрофічні процеси спостерігалися практично по всій товщі епітелію з залученням шиповатого і зернистого шарів. В меншій мірі виражену проліферацію базального шару можна розглядати як відповідну реакцію на описані зміни.

Наслідком проліферативних процесів була наявність акантотичних тяжів у власній пластинці слизової оболонки. Ретикулярні волокна були добре

виражені, покручені, рідко анастомізували між собою, утворюючи мережу. Дифузно по всій власній пластинці слизової були присутні запальні інфільтрати з наявністю лімфоцитів, лейкоцитів, макрофагів, плазмоцитів. Найчастішими серед клітинних елементів були лімфоцити, тканинні базофіли, макрофаги. Слід зазначити виборчу локалізацію зазначених інфільтратів переважно в області периваскулярного простору і базальної мембрани. Базальна мембрана була потовщена, гомогенна. Також в периваскулярному просторі визначалися поодинокі фібробласти. Колагенові волокна були розташовані пучками, фуксинофільні місцями, зустрічалися поодинокі лизировані фрагментовані елементи. Ретикулярні волокна сітчастого шару були грубі, розгалужені, рідко анастомізували між собою, з наявністю невеликої кількості волокон.

Судини МЦР були потовщені, нерівномірного кровонаповнення, з наявністю тромботичних утворень, анастомізували між собою (рис. 4.7).

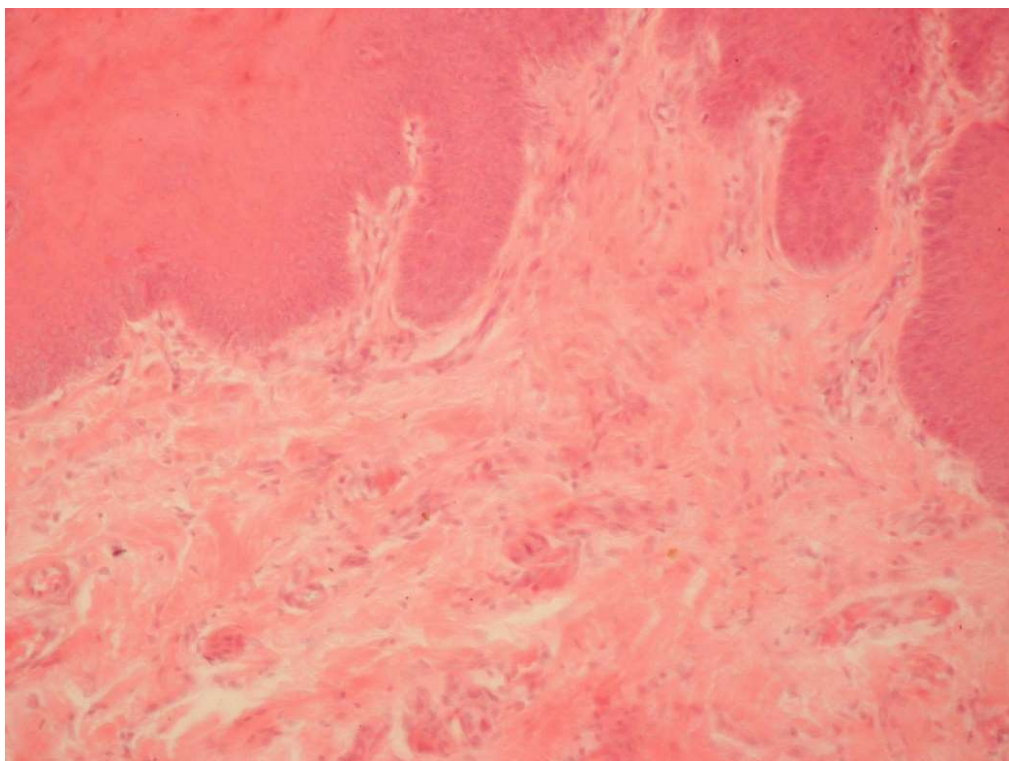


Рис. 4.7. Потовщення судин мікроциркуляторного русла, їх нерівномірне кровонаповнення, осередкові запальні інфільтрати. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення x200

Місцями визначалися новоутворені капіляри, що утворювали мережу. У той же час слід зазначити звужені судини в поєднанні з паретичними розширеними венулами з підвищеним кровонаповненням. В просвіті цих судин визначається агрегація формених елементів крові з утворенням тромботичних мас. Крім того, в периваскулярному просторі таких судин визначалися діapedезні крововиливи. Ендотеліоцити судин були як сплюснені, так і з наявністю округлої форми. Ядра були світлі, розташовані в центрі клітини, цитоплазма була базофільна. Процеси десквамації ендотелію були виражені.

При аналізі результатів пероксидазної реакції з МКА до VEGF спостерігається її активація реакції з $0,93 \pm 0,15$ ум. од. в інтактною групі до $1,69 \pm 0,11$ ум. од. після моделювання ЦД (рис. 4.8).

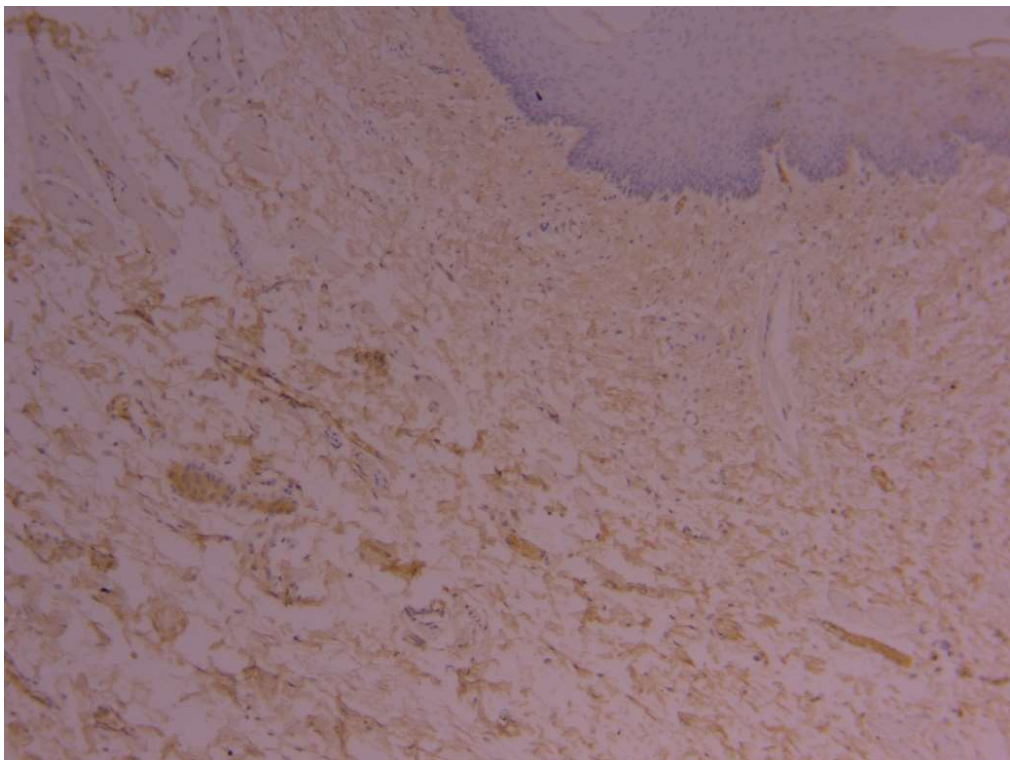


Рис. 4.8. Активація ангиогенезу. Пероксидазна реакція з МКА до VEGF.

Збільшення x100

Патологічні процеси, викликані моделюванням цукрового діабету, виражені і в області підслизового шару. Запальні інфільтрати

розташовувалися в області периваскулярного простору, супроводжували судини, для яких характерні виражені ознаки фібриноїдного набухання.

Відзначалась активація процесом апоптозу, про що свідчать результати пероксидазної реакції до ВАХ, які збільшилися з $0,75 \pm 0,47$ ум.од. в інтактній групі до $2,17 \pm 0,16$ ум.од. в досліджуваних.

Патологічні процеси були виражені і в підлягаючих тканинах, зокрема, в гладком'язових тканинах. Дані зміни характеризувалися частковим руйнуванням гладком'язових волокон, редукцією ядер.

При проведенні морфометричних досліджень було встановлено, що діаметр артеріол в даній підгрупі становить $17,14 \pm 0,93 \times 10^{-6}$ м, прекапілярних артеріол $11,54 \pm 0,39 \times 10^{-6}$ м, капілярів $6,90 \pm 0,29 \times 10^{-6}$ м, посткапілярних венул $29,52 \pm 0,73 \times 10^{-6}$ м, венул $43,21 \pm 1,67 \times 10^{-6}$ м.

У кістковій тканині відзначаються зміни, відповідні деструктивним процесам. Трабекули губчастої кісткової тканини розріджені, подекуди між собою анастомізують, поперечні трабекули присутні, на їх поверхні визначаються зони втягнення, іноді – западання. Остеокласти функціонально активні, перебувають на поверхні трабекулярної мережі (рис. 4.9).

Остеобласти були розташовані в окісті, функціонально неактивні, остецити розташовані в лакунах, які часто ділатировані. Кількість цитоплазматичних відростків знижено, що вказує на те, що обмінні процеси відбуваються в більш повільному ступені, ніж у тварин інтактної групи. Межтрабекулярна речовина представлена пухкою волокнистою сполучною тканиною з великою кількістю клітинних елементів, що формують запальні інфільтрати. Колагенові волокна частково лизировані, ретикулярні, поодинокі, менш покручені, ніж у тварин інтактної групи, з'єднувалися між собою, утворюючи мережу.

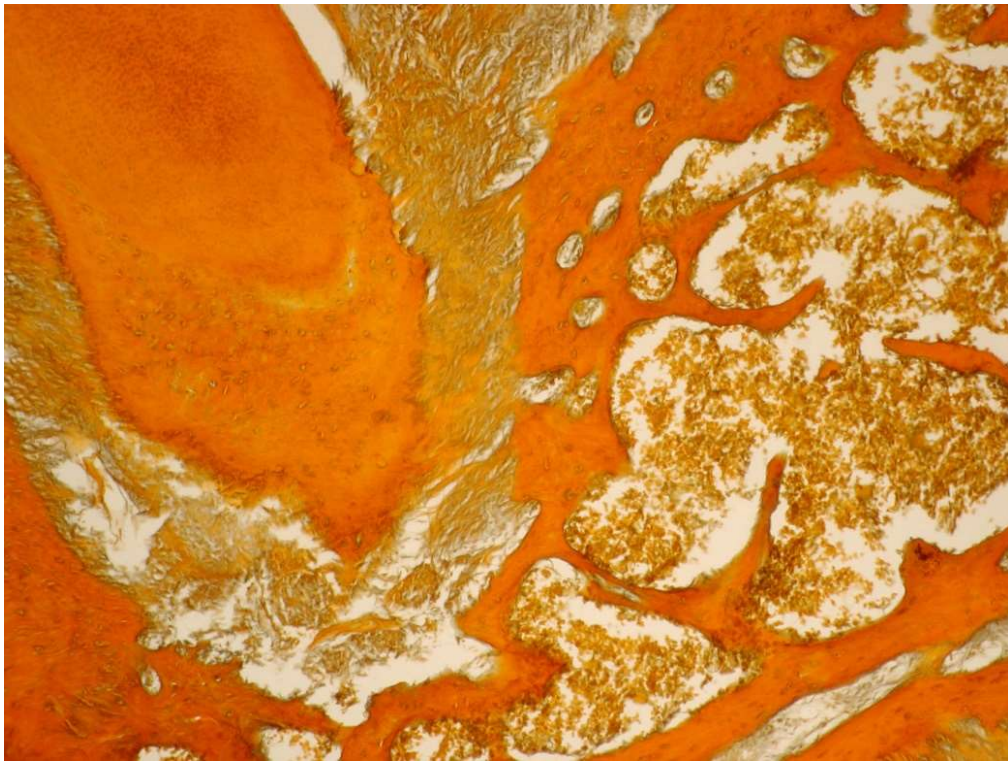


Рис. 4.9. Періодантальний простір з наявністю зв'язків і кісткової тканини. Функціонально активні остеокласти на поверхні трабекулярної мережі. Модифіковане забарвлення за Малорі. Збільшення x100.

Остеони пластинчастої тканини також були добре виражені, в центральній частині гаверсових каналів містили судинно-нервовий пучок, зустрічалися на фоні різко спазмованих, різко паретичних ділатированих судин з тромботичними масами.

4.2 Морфологічні зміни в порожнині рота щурів при моделюванні цукрового діабету і установки імплантатів

В даному експерименті оцінювалися морфологічні порушення в порожнині рота щурів при моделюванні установки імплантатів і ЦД 2 типу.

При дослідженні груп тварин, яким в процесі експерименту моделювався ЦД з подальшою установкою імплантатів, була виявлена бліда слизова оболонка порожнини рота, яка була стоншена, місцями набрякла,

легкоранима, кровоточила при доторканні шпателем. В області ясен визначалися чисельні точкові, ерозійні дефекти і поодинокі виразкові, які місцями зливались. Слід зазначити виражені в значній мірі явища гіперкератозу, що проявлялися потовщенням рогового шару на фоні згладженості, стоншування шиповатого і зернистого, виявлялися ділянки ерозій (рис. 4.10).

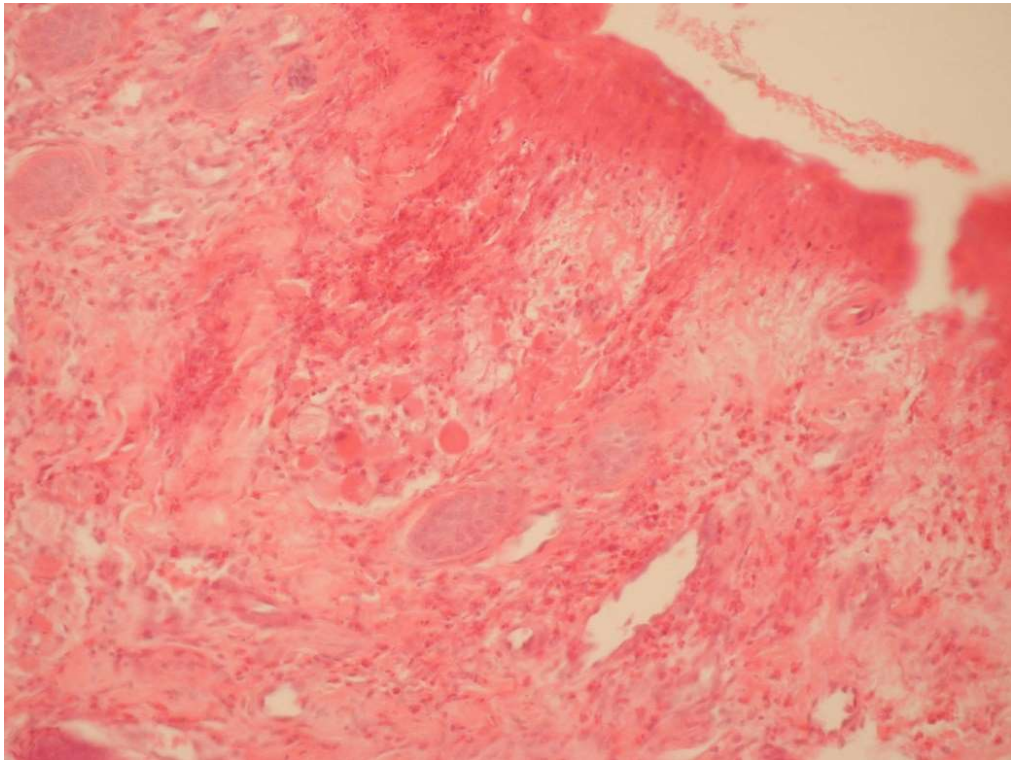


Рис. 4.10. Зона пошкодження епітелію з вираженими ерозивно змінами. Дифузна запальна інфільтрація власної пластинки слизової оболонки. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення x200.

Ділянки некрозу слизової оболонки чергувалися з ділянками атрофії і проліферації. Процеси проліферації відбувалися за рахунок клітин в більшій мірі зернистого, шиповатого, а, в меншій мірі, і базального шару. Плоскоклітинний пласт був нерівномірно потовщений. Клітини зернистого шару були дещо збільшені в об'ємі, мали витягнуту в довжину, веретеноподібну форму, були розташовані паралельно. Цитоплазма була практично тотально заповнена включеннями кератогіаліну. Клітини

шиповатого шару були також значно збільшені в розмірах, поліморфні. Визначалася тенденція зв'язку між формою клітин і їх локалізацією. Так, в поверхневих шарах вони були схожі за формою з клітинами зернистого шару, були веретеноподібні, далі набували ромбоподібної форми і в глибоких шарах ставали поліедричними.

Мітотична активність клітин була різко знижена, мітози були поодинокі. Базальна мембрана була нерівномірно потовщена, подекуди набрякла, була представлена шаром ретикулінових волокон і базальною пластинкою і при фарбуванні, як гематоксиліном і еозином, так і за ван Гізоном, виглядали однорідно ущільненими. У зоні зубоясенного з'єднання формувалися пародонтальні кишени (рис. 4.11).

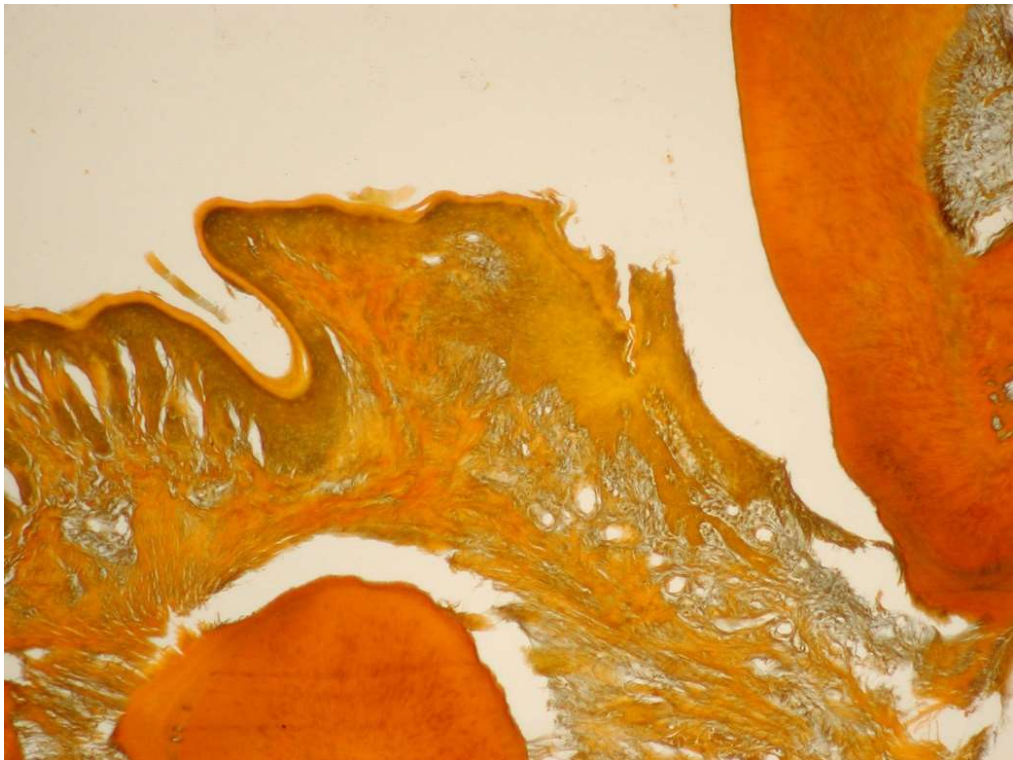


Рис. 4.11. Формування пародонтальної кишені в зоні зубоясенного з'єднання. Модифіковане забарвлення за Малорі. Збільшення x100.

Інтраепітеліально визначалися запальні інфільтрати, що досягали іноді значних розмірів і поширювалися аж до сосочкового шару дерми. Дані

інфільтрати місцями зливалися. Представлені вони були переважно скупченням лімфоцитів.

У той же час в області зубоясенної кишені процеси кератинізації були виражені слабо, переважали дистрофічні зміни, які проявлялися стоншенням і дистрофічними змінами, максимально вираженими в шиповатому і базальному шарі.

Сосочковий шар був згладжений, кількість сосочків була збільшена. Звертає на себе увагу велика кількість запальних інфільтратів у власній пластинці, які були представлені великою кількістю клітин: тканинними базофілами, тучними клітинами, лімфоцитами, макрофагами. Зазначені запальні елементи були дифузно розподілені по всьому сосочковому шару власної пластинки, проникаючи аж до базальної мембрани, а місцями до гладком'язових волокон, розшарюючи їх. Також лімфоплазмоцитарні інфільтрати розташовувалися в периваскулярному просторі.

При проведенні імуногістохімічної реакції до VAX відзначалася тенденція до ще більшої активації апоптозу, що в даній групі відповідає $2,88 \pm 0,52$ ум.од., що слід розглядати як активний апоптотичний процес в тканинах пародонта.

Судини мікроциркуляторного русла були неоднорідні, кровонаповнення було нерівномірним. Зустрічалися як звужені, стенозовані судини, так і паретично дилатировані. В просвіті судин часто зустрічалися мікротромби, що місцями сягали великих розмірів, практично повністю обтуруючи судини. При цьому тромботичні маси визначалися в капілярах, посткапілярах і венулах. Стінки судин були набряклі, різко потовщені, з ознаками мукоїдного набухання. Дані зміни відповідали ділянкам слизової з максимально вираженою запальною лімфоплазмоцитарною інфільтрацією. Колагенові волокна в периваскулярному просторі були лизировані та фрагментовані.

У даній групі відзначалася помітна активація ангиогенезу, про що свідчить підвищення інтенсивності імуногістохімічної реакції до $1,96 \pm 0,21$ ум. од. (рис. 4.12).

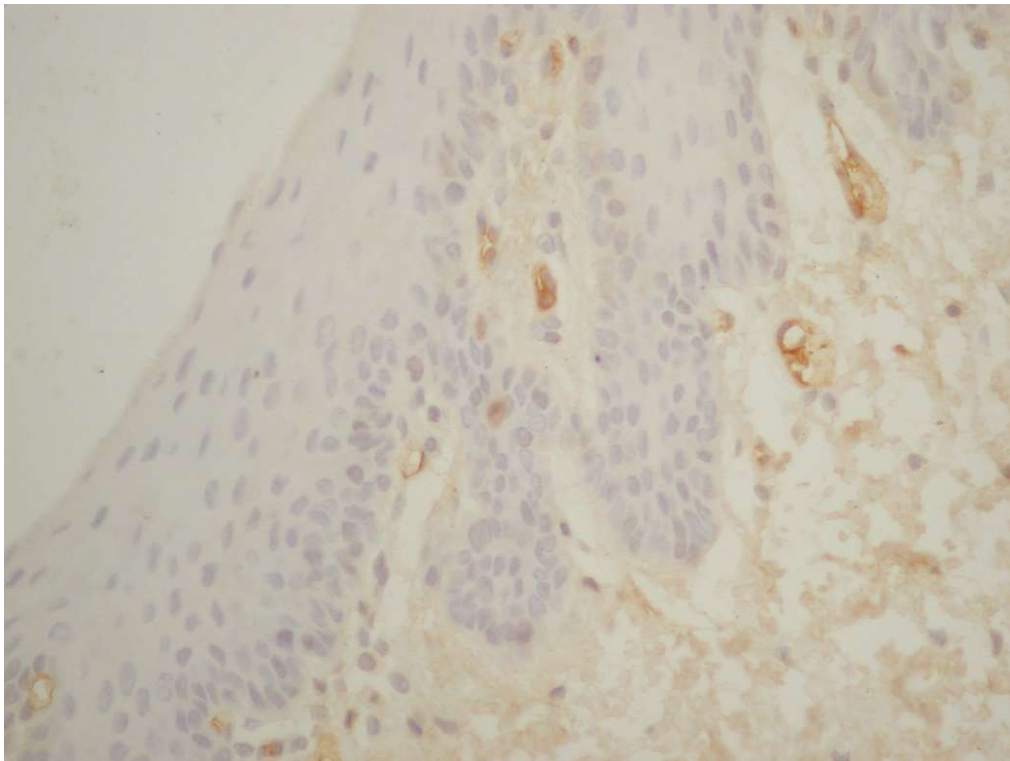


Рис. 4.12. Активація ангиогенезу у власній пластинці слизової оболонки.
Пероксидазна реакція з МКА до VEGF. Збільшення x400.

До патологічного процесу був залучений і підслизовий шар ротової порожнини тварин. Тут визначалися множинні скупчення клітинних елементів, які дифузно розташовувалися, захоплюючи практично весь шар підслизової оболонки, особливо часто зустрічалися в області судин. Клітинні елементи були різноманітні і представлені лімфоцитами, макрофагами, плазмоцитами, тканинними базофілами, тучними клітинами. Відзначалася особливо виражена запальна реакція з боку судинної стінки в місцях максимального скупчення даних інфільтратів, що проявлялася її набряком, набуханням, наявністю ділянок десквамації ендотелію, аж до повного оголення базальної мембрани. Недостатнє кровопостачання призвело до появи ділянок практично гомогенного чорнуватого фарбування при використанні методики Рего (рис. 4.13).

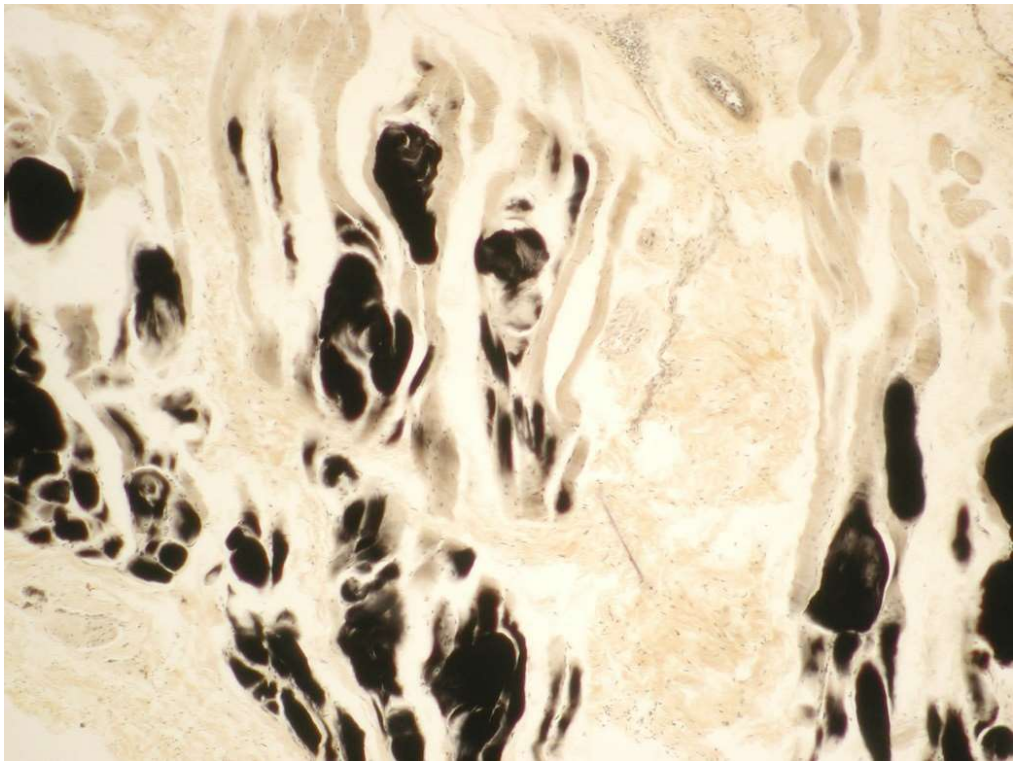


Рис. 4.13. Зони вираженої ішемії в глибоких шарах тканини ротової порожнини. Забарвлення за Рего. Збільшення $\times 100$.

У піддослідних тварин спостерігалися судини різного калібру з тромботичними масами в їх просвіті. Частина їх патологічно була розширена. Навколо них визначалися діapedезні крововиливи. Визначалася тенденція до виникнення на більш пізніх термінах дослідження більшої кількості паретично розширених судин, ніж на ранніх. Вени, венули і капіляри були повнокровні.

При проведенні морфометричних досліджень встановлено, що діаметр артеріол в даній підгрупі становить $15,24 \pm 1,37 \times 10^{-6}$ м, прекапілярних артеріол $9,55 \pm 0,68 \times 10^{-6}$ м, капілярів $4,77 \pm 0,37 \times 10^{-6}$ м, посткапілярних венул $32,52 \pm 0,32 \times 10^{-6}$ м, венул $48,58 \pm 1,44 \times 10^{-6}$ м, що посилює морфологічну картину мікроциркуляторного русла в порівнянні з інтактною групою щурів.

При цьому також відзначалися різко виражені процеси резорбції кістки, що переважали над репаративними процесами (рис. 4.14).

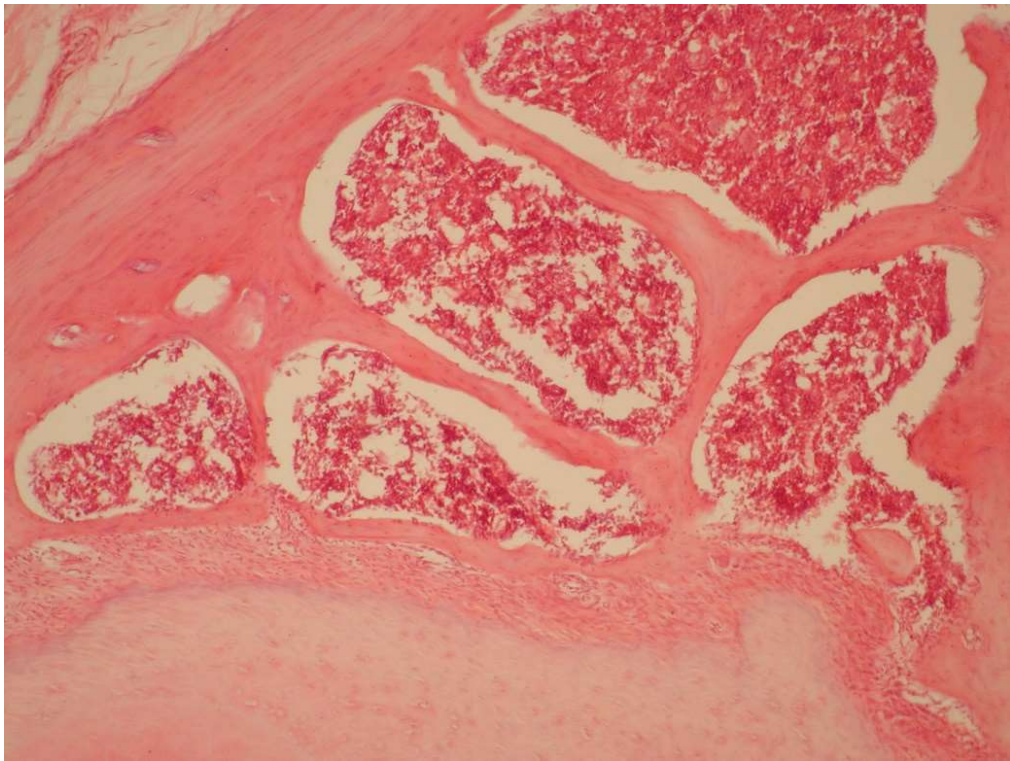


Рис. 4.14. Витончення кісткових трабекул. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення x100.

Трабекули були неоднорідні, часто зустрічалися і зменшені в розмірах, сліпо закінчувалися та рідко анастомізували між собою. Поперечні трабекули були погано розвинені. На їх поверхні візуалізувалася значна кількість остеокластів – багатоядерних клітин з гофрованою поверхнею і гіперхромними ядрами. На поверхні розрідженої трабекулярної мережі визначалися добре виражені ділянки западання, що відповідали місцю скупчення остеокластів (рис. 4.15).

У глибоких шарах окістя визначалися остеобласти, які були переважно функціонально неактивними. Зрідка зустрічалися функціонально активні клітини з базофільною цитоплазмою і великими гіперхромними ядрами. Колагенові волокна були розташовані хаотично, зі слідами деструктивних змін, лізису. Визначалися також поодинокі ретикулярні волокна. Деструктивні процеси торкнулися і пластинки остеона, на поверхні яких визначалися місця руйнування, западання кісткової тканини.



Рис. 4.15. Виражені ділянки западання на поверхні розрідженої трабекулярної мережі, відповідні місця максимального скупчення остеокластів. Модифіковане забарвлення за Маллорі. Збільшення x100.

4.3 Ефективність лікувально-профілактичних заходів при моделюванні у щурів цукрового діабету і установки імплантатів

Була проведена оцінка впливу розроблених лікувально-профілактичних заходів на морфологічні порушення в порожнині рота щурів при моделюванні у них ЦД 2 типу та установки імплантатів.

При дослідженні групи тварин, у яких моделювали ЦД 2 типу з подальшою установкою імплантатів і проведенням лікувально-профілактичних заходів, спостерігалася незначна блідість слизової оболонки порожнини рота, зберігалася деяка їх вразливість при доторканні шпателем. Однак, визначалися лише поодинокі фокуси ерозивних дефектів, невеликі ділянки петехіальних крововиливів. Слизова порожнини рота була покрита

багатошаровим плоским неороговівуючим епітелієм, в області ясен – ороговівуючим.

При вивченні гістологічних препаратів, забарвлених гематоксиліном і еозином, спостерігалось нерівномірне потовщення епітеліального пласта. Явища гіперкератозу були виражені в меншій мірі, ніж у щурів у разі відсутності лікувально-профілактичних заходів (рис. 4.16).

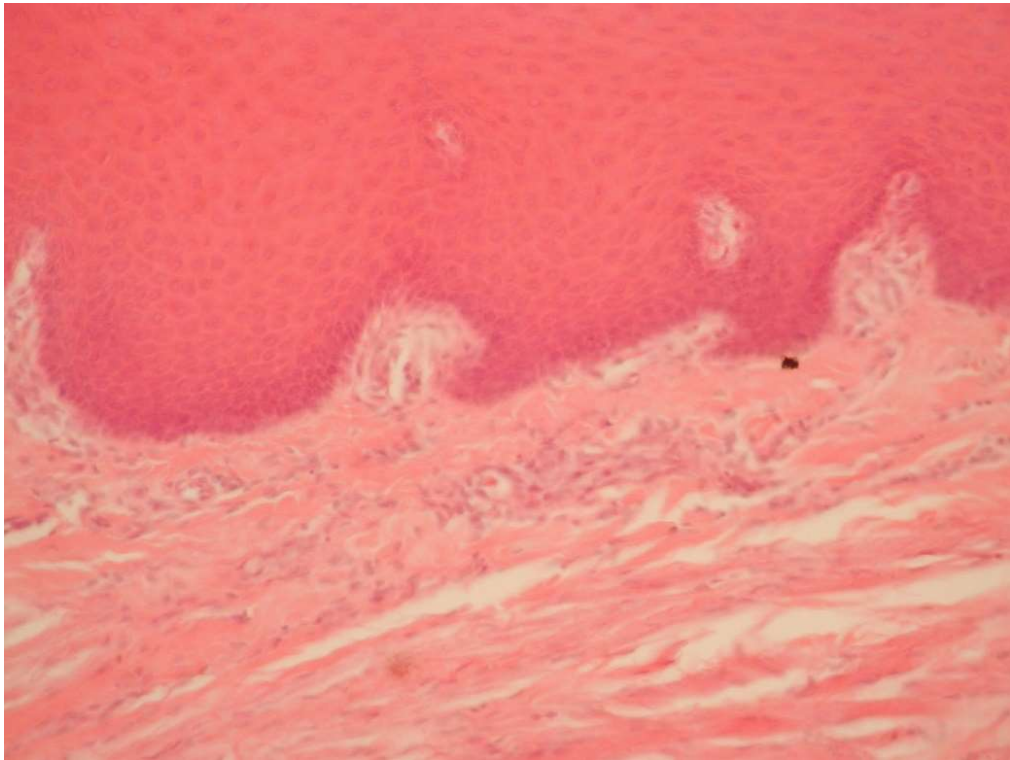


Рис. 4.16. Зона різкого потовщення епітеліального пласта. Помірно виражені явища акантозу. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення x200.

При цьому в порожнині рота щурів спостерігалися морфологічні відмінності від групи щурів, що не отримувала ЛПК. Клітини зернистого шару в даному випадку були дещо менші за розмірами, зерна місцями зливалися і субтотально заповнювали клітку. Тенденції до паралельної орієнтації клітин не спостерігалось. При дослідженні слизової тварин цієї групи клітини шиповатого шару виглядали сплюсненими. У цитоплазмі містилися вакуолі, що сягали великих розмірів, відтісняли ядро на периферію. Цитоплазма клітин

була базофільна, ядра були гіперхромні. Слабопозитивна PAS-реакція була більше виражена в шипуватому шарі.

Мали місце ознаки, характерні для дистрофічних та проліферативних процесів, хоча вони були виражені в значно меншому ступені, ніж у тварин, що не отримували ЛПК. Так, дистрофічні процеси візуалізувалися в області зубоясенної кишені і виявлялися стоншенням шиповатого і рогового шару на фоні збільшення рогового шару. Проліферативні процеси були обумовлені перш за все шипуватим і зернистим шаром і в меншій мірі проліферацією базального шару. Власна пластинка містила акантотичні тяжі, які були добре виражені. Ретикулярні волокна також були виражені, не разволокнені, викручені, рідко анастомозували між собою, утворювали мережу. Склеротичні процеси були помірними (рис. 4.17).

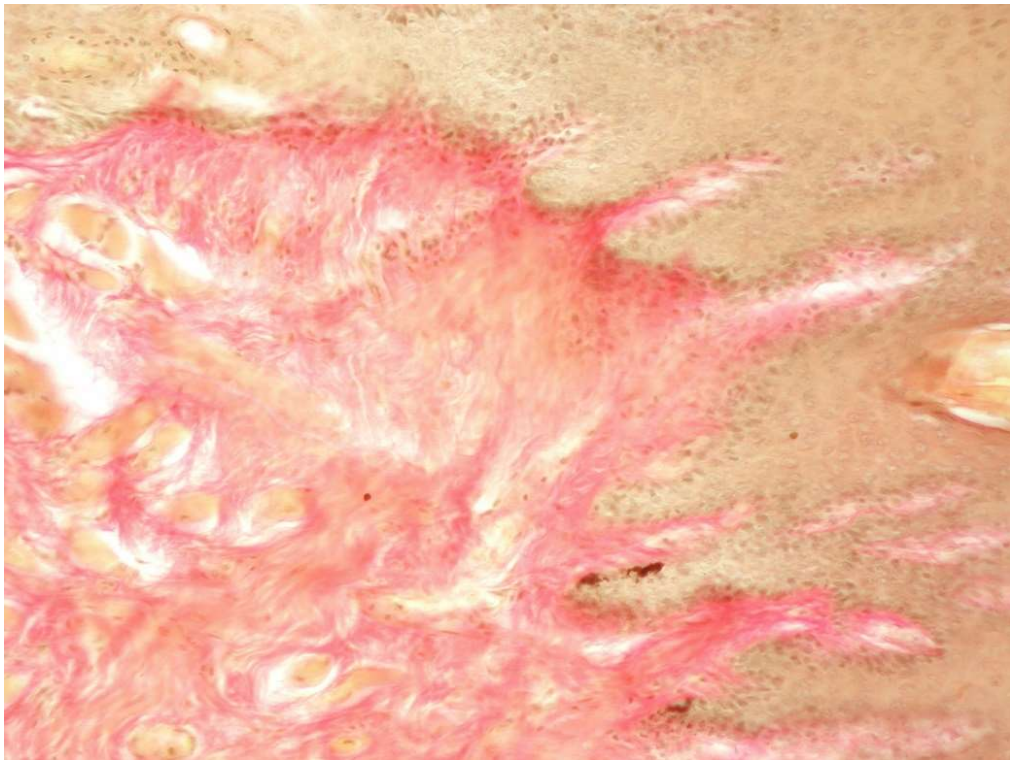


Рис. 4.17. Епітелій і власна пластинка слизової. Сполучна тканина власної пластинки представлена як еластичними волокнами, так і колагеновими волокнами, частина з яких із ознаками гіалінізації. Помірно виражені явища акантозу. Забарвлення за ван Гизоном. Збільшення x200.

Власна пластинка містила невелику кількість запальних інфільтратів. Вони були представлені різноманітністю клітинних елементів, найчастішими серед яких були лімфоцити, тканинні базофіли, макрофаги. Слід зазначити виборчу локалізацію зазначених інфільтратів переважно в області периваскулярного простору і базальної мембрани. Базальна мембрана була потовщена, гомогенна. Також в периваскулярному просторі спостерігалися поодинокі фібробласти. Колагенові волокна були розташовані пучками, були фуксинофільними, місцями зустрічалися поодинокі лизировані фрагментовані елементи. Ретикулярні волокна сітчастого шару були грубі, розгалужені, рідко анастомізували між собою. В цілому сполучнотканинні елементи даної групи були представлені переважно зрілими волокнами.

При постановці ІГХ-реакції до активатора апоптозу VAX зазначалося її зниження до $1,04 \pm 0,13$ ум.од., що достовірно наближалось до показників тварин інтактної групи.

Судини мікроциркуляторного русла були виражені в достатній мірі і анастомізували між собою. Подекуди визначалися новоутворені капіляри, які утворювали мережу. У той же час подекуди зустрічалися поодинокі суджені судини. Велика частина судин характеризувалася підвищеним кровонаповненням. Ендотеліоцити судин мали велику округлу форму. Ядро було світле, розташовувалося в центрі клітини, цитоплазма була базофільна. Процеси десквамації ендотелію не визначались. В цілому процеси ангиогенезу були не активні, про що свідчить низька експресія VEGF – $1,05 \pm 0,09$ ум. од., що практично відповідає показнику інтактної групи.

Патологічні процеси, викликані застосуванням імплантатів і моделюванням цукрового діабету, істотно меншою мірою були виражені в порівнянні з групою щурів, де лікувально-профілактичні заходи були відсутні. Запальні інфільтрати були незначні, розташовувалися в області периваскулярного простору, також супроводжували судини, в деяких з яких виявлялися ознаки мукоїдного набухання.

При проведенні морфометричних досліджень було встановлено, що діаметр артеріол в даній підгрупі становив $21,01 \pm 1,87 \times 10^{-6}$ м, прекапілярних артеріол $12,54 \pm 0,62 \times 10^{-6}$ м, капілярів $7,11 \pm 0,41 \times 10^{-6}$ м, посткапілярних венул $29,52 \pm 0,65 \times 10^{-6}$ м, венул $40,31 \pm 1,54 \times 10^{-6}$ м.

Губчаста кісткова тканина тварин, які отримували ЛПК, була представлена трабекулярною мережею. Трабекули були добре виражені, в тому числі і поперечні, часто анастомозували між собою. Подекуди на їх поверхні визначалися поодинокі ділянки западин. Процеси резорбції пластинок були виражені мінімально (рис. 4.18).



Рис. 4.18. Слабко виражені процеси резорбції в періодантальному просторі. Модифіковане забарвлення за Маллорі. Збільшення $\times 200$.

Основними клітинними елементами у щурів, які отримували ЛПК, були остецити, які розташовувалися в лакунах, повністю повторюючи їх форму. З огляду на вираженість анастомозованих між собою цитоплазматичних відростків, можна було судити про достатній рівень обмінних процесів в кістковій тканині на фоні проведеного лікування. На деяких ділянках тканини

візуалізувалися поодинокі запальні елементи, які переважно локалізувалися в області судин і були представлені лімфоцитами, плазмоцитами, базофілами, поодинокими макрофагами, тучними клітинами.

Пластинчаста кісткова тканина у щурів, які отримували ЛПК, була представлена остеонами з добре вираженим гаверсовим каналом, який займав в них центральне положення. Судини, в основному, були повнокровними, іноді зустрічалися дилатировані судини з мікротромбами в їх просвіті. Деструктивні зміни в структурі остеонів не спостерігалося. У меншій мірі деструктивні зміни стосувалися і колагенових волокон в складі аморфної речовини, які розташовувалися пучками. В деяких ділянках спостерігалися волокна з поодинокими ознаками фрагментації, лізису. Кількість ретикулярних волокон була значно менше, ніж колагенових і вони були покручені за формою та анастомізували між собою.

Висновки до розділу 4:

– Показано, що при ЦД 2 типу в тканинах пародонта щурів розвиваються ішемічні і дистрофічні процеси, що призводить до розвитку у тварин деструктивно-запальних процесів, одним з факторів патогенезу якого є активація апоптозу, компенсаторної активації ангиогенезу, про що свідчить підвищення експресії VAX в 1,81 рази, VEGF в 2,89 рази.

– Фіксація імплантатів у щурів на фоні моделювання цукрового діабету посилює морфологічну картину деструктивно-запальних процесів в ротовій порожнині тварин з триваючими вазоконстрикторними змінами мікроциркуляторного русла із звуженням артеріол і розширенням венул, що лежить в основі подальшої активації апоптозу і перебудови тканини ротової порожнини. Отримані результати свідчать про необхідність розробки і використання лікувально-профілактичних заходів супроводу ортопедичного лікування з використанням імплантатів у пацієнтів з цукровим діабетом.

– Запропонована схема лікувально-профілактичних заходів на фоні моделювання ЦД і установки імплантатів призвела у щурів до нормалізації порушеної судинної картини мікроциркуляторного русла, до зниження активності апоптотичних процесів, до зменшення запальних процесів тканин ротової порожнини і до зниження активності резорбційних процесів твердих тканин.

Матеріали розділу опубліковані в працях [17-19], наведених у додатку А.

РОЗДІЛ 5 ОЦІНКА СТАНУ ГЕНІВ, ПОВ'ЯЗАНИХ ІЗ ОСТЕОГЕНЕЗОМ, ПРИ ОРТОПЕДИЧНОМУ ЛІКУВАННІ ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

5.1 Порушення в генетичних маркерах, пов'язаних з кістковим метаболізмом, у пацієнтів з зубощелепними аномаліями на фоні метаболічних порушень

З появою методів діагностики в галузі молекулярної генетики ортопедичне і ортодонтичне лікування можуть отримати абсолютно новий напрямок. Розуміння змін, що відбуваються на молекулярному і генетичному рівнях під дією ортодонтичної сили, безумовно, відкриває нові шляхи для розробки кращих стратегій діагностики, профілактики та лікування [31].

При нормальному ремоделюванні кістки баланс між резорбцією кістки (опосередкованої остеокластами) і формуванням кістки (опосередкованої остеобластами) строго регулюється і підтримується для забезпечення того, щоб в зрілій здоровій кістці не було ніяких істотних змін в кістковій масі або механічній міцності після кожного циклу ремоделювання. Правильна рівновага контролюється поєднанням утворення кістки з резорбцією кістки, яке включає в себе ряд координованих сигнальних механізмів. Проте, дисбаланс між резорбцією кістки і утворенням кістки може виникати при певних патологічних станах, що призводить до аномального ремоделювання кістки і розвитку кісткових порушень [156].

Метаболічний синдром, цукровий діабет і інша патологія мають істотний вплив на процес ремоделювання кісткових тканин, який спостерігається при проведенні ортодонтичного лікування із застосуванням механічних або функціональних сил, а також інтеграцію імплантатів при ортопедичному лікуванні. Це пов'язано, в першу чергу, зі зменшенням

остеобластичної активності або посиленням апоптозу при цьому, підвищенням резорбтивної активності кістки [182].

Тому вивчення стану генів, пов'язаних з кістковим метаболізмом, як при ортодонтичному, так і при ортопедичному лікуванні зубів у пацієнтів з метаболічними порушеннями представляє науковий і практичний інтерес.

Нами був вивчений поліморфізм генів, безпосередньо або побічно пов'язаних з кістковим метаболізмом, у пацієнтів з метаболічними порушеннями, спрямованих на ортодонтичне та ортопедичне лікування.

Перелік досліджених генів, пов'язаних з кістковим метаболізмом, і результати дослідження наведені в таблицях 5.1-5.4.

Ген PON1 (параоксонази 1) є геном, що кодує білок. Цей ген кодує член сімейства параоксонази ферментів. Після синтезу в нирках і печінці фермент виділяється в кровоносне русло і зв'язується з ліпопротеїнами високої щільності (ЛПВЩ), відповідає за їх антиоксидантні властивості, захищає від перекисного окислення ліпідів і гідролізує ксенобіотики (2 фаза детоксикації). Захворювання, пов'язані з PON1, включають мікросудинні ускладнення. Поліморфізми в цьому гені пов'язують з цукровим діабетом та ІХС. Анотації генної онтології, пов'язані з цим геном, включають зв'язування іонів кальцію і зв'язування фосфоліпідів [350]. У наших дослідженнях метаболічні відхилення в гені PON1 становили 96,4% випадків (57,1% – гетерозиготи, 39,3% – мутації) (табл. 5.2).

Таблиця 5.1

Перелік досліджуваних генів

Назва	Ген	Поліморфізм	Тест-система, праймери	T °C віджигу
1	2	3	4	5
Параоксаназа, кальцій-залежна естераза	PON1	Gln192Arg	«SNP- експрес-ЕФ» НПФ «Літех»	64

Продовження табл. 5.1

1	2	3	4	5
Ендотеліальна синтаза	eNOS3	4B/4A	F-CTA TGG TAG TGG CTT GGC TGG AGG R- ACC GCC CAG GGA ACT CCG CT	60
4АполіпропротеїнЕ	ApoE	Leu28Pro	«SNP- експрес-ЕФ» НПФ «Літех»	64
Ендотеліальний фактор росту судин	VEGF A	C634G	«SNP- експрес-ЕФ» НПФ «Літех»	64
Трансформуючий фактор росту	TGF	T869C	«SNP- експрес-ЕФ» НПФ «Літех»	64
Рецептор вітаміну D	VDR		«SNP-Скрін» НПК «Синтол»	68
Колаген 1 типу альфа	COL1A1		«SNP-Скрін» НПК «Синтол»	68

Таблиця 5.2

**Порушення в генах, пов'язаних з кістковим метаболізмом при
цукровому діабеті і метаболічному синдромі**

№	PON Gly192Arg			APOE Leu28Pro		
	Н	Г	М	Н	Г	М
1	2	3	4	5	6	7
1			Arg /Arg		Leu28Pro	
2		Gly/Arg		Leu28 Leu		
3			Arg /Arg	Leu28 Leu		
4		Gly/Arg		Leu28 Leu		
5		Gly/Arg			Leu28Pro	
6		Gly/Arg			Leu28Pro	
7		Gly/Arg			Leu28Pro	
8			Arg /Arg		Leu28Pro	
9		Gly/Arg		Leu28 Leu		
10		Gly/Arg			Leu28Pro	
11			Arg /Arg	Leu28 Leu		
12		Gly/Arg			Leu28Pro	
13			Arg /Arg	Leu28 Leu		
14			Arg /Arg		Leu28Pro	
15			Arg /Arg		Leu28Pro	
16			Arg /Arg		Leu28Pro	
17			Arg /Arg		Leu28Pro	
18		Gly/Arg			Leu28Pro	
19			Arg /Arg	Leu28 Leu		
20			Arg /Arg	Leu28 Leu		
21		Gly/Arg			Leu28Pro	
22		Gly/Arg			Leu28Pro	

Продовження табл. 5.2

1	2	3	4	5	6	7
23		Gly/Arg		Leu28 Leu		
24		Gly/Arg		Leu28 Leu		
25		Gly/Arg		Leu28 Leu		
26		Gly/Arg			Leu28Pro	
27		Gly/Arg			Leu28Pro	
28	Gly/Gly			Leu28 Leu		
Кіль- кість	1	16	11	12	16	
%	3,6	57,1	39,3	42,9	57,1	

Примітка н – норма, г – гетерозигота, м – мутація.

Ген АРОЕ (аполіпопротеїн Е) являє собою білок, що також кодує ген. Цей білок зв'язується зі специфічним рецептором печінки і периферичних клітин і необхідний для нормального метаболізму компонентів, багатих на тригліцериди та ліпопротеїни. Серед пов'язаних з ним шляхів – шлях сепатинів. Мутації в цьому гені призводять до гіперліпопротеїнемії типу III, якій властивий підвищений рівень холестерину і тригліцеридів у плазмі крові [273]. У гені АРОЕ, що відповідає за метаболізм ліпопротеїнів і первинну регенерацію кісткових тканин, відхилення від норми (гетерозиготи) в нашому випадку становили 57,1% (табл. 5.2).

Ендотеліальний ген NOS3 (e-NOS) являє собою білок, який також кодує ген, пов'язаний з активністю оксидоредуктаз і зв'язуванням іонів заліза, сприйнятливості до коронарного спазму, регулює реакцію кісток на навантаження [350]. У гені NOS в 42,9% випадків ми відзначали мутації і гетерозиготи (табл. 5.3).

Ендотеліальний фактор росту судин (VEGF) відіграє ключову роль в процесі атіогенезу, а також збільшує проникність судин, стимулює зростання

ендотеліальних клітин судин, пригнічує апоптоз. Алельні варіанти VEGF пов'язані з мікросудинними ускладненнями при діабеті та атеросклерозі [210].
Порушення в VEGF в нашому дослідженні склали 96,5%, з них 67,9% – гетерозиготи і 28,6% – мутації (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

**Порушення в генах, пов'язаних з кістковим метаболізмом при
цукровому діабеті і метаболічному синдромі**

№	NOS 4b/4a			VEGF C634G		
	Н	Г	М	Н	Г	М
1	2	3	4	5	6	7
1			4a/4a			G/G
2		4b/4a				G/G
3		4b/4a			C/G	
4		4b/4a			C/G	
5	4b/4b				C/G	
6			4a/4a		C/G	
7	4b/4b					G/G
8			4a/4a			G/G
9	4b/4b				C/G	
10		4b/4a				G/G
11		4b/4a				G/G
12	4b/4b				C/G	
13		4b/4a			C/G	
14	4b/4b				C/G	
15	4b/4b				C/G	
16	4b/4b				C/G	
17	4b/4b					G/G
18	4b/4b				C/G	

Продовження табл. 5.3

1	2	3	4	5	6	7
19			4a/4a			G/G
20	4b/4b				C/G	
21	4b/4b				C/G	
22	4b/4b				C/G	
23	4b/4b				C/G	
24		4b/4a			C/G	
25	4b/4b				C/G	
26	4b/4b				C/G	
27		4b/4a			C/G	
28	4b/4b			C/C		
Кол-во	16	8	4	1	19	8
%	57,1	28,6	14,3	3,6	67,9	28,6

Примітка: н – норма, г – гетерозигота, м – мутація.

Таблиця 5.4

**Порушення в генах, пов'язаних з кістковим метаболізмом при
цукровому діабеті і метаболічному синдромі**

№	TGF T869C			COL1A1 Rs 1107949			VDR T35C		
	н	г	м	н	г	м	н	г	м
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	T/T			C/C					C/C
2	T/T			C/C					C/C
3	T/T			C/C				T/C	
4		T/C			C/A		T/T		
5	T/T			C/C				T/C	
6	T/T				C/A		T/T		

Продовження табл. 5.4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
7	T/T			C/C				T/C	
8		T/C			C/A			T/C	
9		T/C		C/C			T/T		
10		T/C			C/A			T/C	
11		T/C			C/A				C/C
12	T/T				C/A			T/C	
13	T/T			C/C					C/C
14		T/C			C/A		T/T		
15		T/C			C/A			T/C	
16		T/C			C/A				C/C
17	T/T			C/C				T/C	
18		T/C		C/C			T/T		
19			C/C	C/C			T/T		
20	T/T			C/C					C/C
21		T/C		C/C				T/C	
22		T/C		C/C			T/T		
23		T/C		C/C				T/C	
24	T/T			C/C				T/C	
25	T/T			C/C				T/C	
26	T/T			C/C				T/C	
27	T/T				C/A			T/C	
28		T/C			C/A				C/C
Кіль- кість	14	13	1	17	11		7	14	7
%	50	46.4	3.6	68	32		25	50	25

Примечание: н – норма, г – гетерозигота, м – мутация.

Оцінку здатності утворення кістки, проліферації остеобластів проводили по гену TGF, що особливо важливо при остеоінтеграції імплантатів та в ретенційному періоді ортодонтичного лікування. Відхилення від норми відзначалися в 50% випадків. TGF – мультипотентний цитокин, що є модулятором клітинного росту, запалення [221]. Він інгібує проліферацію і міграцію ендотеліальних клітин, інгібує імунну систему, пригнічуючи прозапальну цитокінову відповідь. Вивчення продукції ростового фактора може бути використано для оцінки динаміки перебігу захворювань.

Гени CollA1 і VDR відповідають за прогноз ускладнень як при ортопедичному, так і при ортодонтичному лікуванні, виникнення та прогресування пародонтиту, прискорення переміщення зубів. Вони визначають масу і швидкість зміни щільності кісткових тканин. Ген CollA1 кодує про-альфа 1 ланцюга колагену типу I – це колаген, що утворює фібрили, який міститься в більшості сполучних тканин і в достатку міститься в кістках і сухожиллях. Захворювання, пов'язані з CollA1, включають недосконалий остеогенез. У нашому випадку порушення в генах колагеноутворення кістки склали 32%. Ген VDR кодує рецептор вітаміну D3. Мішені для рецептора вітаміну D3 головним чином беруть участь у метаболізмі мінералів і регулюють ряд інших метаболічних шляхів, що беруть участь в імунній відповіді [190]. У гені VDR гетерозиготи і мутації в нашому випадку склали 75% (табл. 5.4).

Отримані результати необхідно враховувати для прогнозування можливих ускладнень при імплантології та лікуванні ЗЩА, а також при розробці лікувально-профілактичних заходів супроводу такого лікування.

5.2 Дослідження поліморфізму генів кісткового метаболізму у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, спрямованих на дентальну імплантацію

При плануванні дентальної імплантації необхідно враховувати наявність абсолютних і відносних протипоказань. У перших рядах серед факторів ризику і відносних протипоказань до оперативних втручань, в тому числі до дентальної імплантації, варто віднести цукровий діабет [93]. «Вживання» дентального імплантату, в першу чергу, залежить від його успішної остеointegraції. Потім першорядного значення набуває процес адекватного ремоделювання кістки. Саме ці процеси забезпечують довготривалу стабільність імплантату.

Ремоделювання являє собою тонку рівновагу між формуванням і деградацією тканин, контрольоване активністю протеолітичних ферментів. Аналіз впливу цукрового діабету на остеointegraцію імплантату виявив зміну процесів ремоделювання кістки і недостатню її мінералізацію, що призводить до уповільнення процесу остеointegraції [58].

Для поліпшення клінічного результату або розробки цільової терапії у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу важливо розуміти молекулярні механізми, які призводять до відторгнення зубного імплантату [117].

Генетичну основу схильності до довговічності зубних імплантатів складають складні взаємодії між генами колагену, ферментами металопротеїназ і тканинними інгібіторами, фенотипічні ефекти яких в процесі остеointegraції можуть реалізуватися у пацієнтів по-різному.

Метою даного дослідження було вивчення генетичного поліморфізму генів, пов'язаних з кістковим метаболізмом (Col1A1-1997G / T, MMP1-1607insG, MMP9 A-8202G, TIMP1C536T, TGF- β 1 T869C, IGF-1 2716G / A, IGF-2 3323 G / A) у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, які потребують ортопедичного лікування з використанням дентальних імплантатів [124, 125].

Ген COL1A1 кодує амінокислотну послідовність альфа-1-ланцюг білка колагену 1 типу. Колаген 1 типу є основною складовою частиною органічної матриці кісткової тканини (90%) і сполучної тканини (30%). Він покращує механічну міцність і виконує морфогенетичну функцію, впливаючи на

зростання, міграцію і диференціювання клітин, визначає їх секреторну і синтетичну активність.

На зразках ДНК пацієнтів з ЦД 2 типу було проведено дослідження поліморфізму (-1997G / T) в промоторній області гену колагену 1 типу COL1A1 (табл. 5.5). Встановлено, що серед обстежених пацієнтів по поліморфізму G / T гена COL1A1 переважають гомозиготи по алелі G (91%). Гомозиготні генотипи G/G виявлено у 81,9% пацієнтів, 18,1% склали пацієнти з гетерозиготним генотипом /T. Гомозиготний мінорний генотип T/T в даній вибірці пацієнтів не був присутній. Збільшення рівня транскрипції гена COL1A1, викликане поліморфізмом (-1997G / T) регуляторної області, призводить до зміни співвідношення альфа 1 і альфа 2 ланцюгів колагену. Це викликає дезорганізацію міжклітинного матриксу та ініціює процес прогресивного зниження мінеральної щільності кісткової тканини [4]. Найбільш виражено це проявляється у гомозиготних носіїв мінорного генотипу, який серед досліджених пацієнтів не виявлено. Але навіть наявність однієї функціонально неповноцінної алелі T у гетерозигот також призводить, хоча в меншій мірі, до порушення нормального співвідношення субодиниць в молекулі колагену I типу, що порушує функції колагену.

Таблиця 5.5

Частота народження алелів і генотипів генів колагену 1 типу Col1A1 - 1997G / T, матричних металопротеїназ MMP1-1607insG, MMP9A-8202G, інгібітора протеїназ TIMP1 C536T.

Алель, генотип	COL1A1 -1997G/T,	Алель, генотип	MMP1 - 1607insG	Алель, генотип	MMP9 A- 202G	Алель, генотип	TIMP1 C536T
	n =11 (%)		n =11 (%)		n =11 (%)		n =11 (%)
1	2	3	4	5	6	7	8
G	20(91)	G	15(68,2)	A	10(45,5)	C	22(100)
T	2(9)	2G	7(31,8)	G	12(54,5)	T	0
G/G	9(81,8)	G/G	6(54,5)	A/A	2(18,2)	C/C	11(100)

Продовження табл. 5.5

1	2	3	4	5	6	7	8
G/T	2(18,2)	G/2G	3(27,3)	A/G	6(54,5)	C/T	0
T/T	0	2G/2G	2(18,2)	G/G	3(27,3)	T/T	0

У пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу процес утворення кісткової тканини зазвичай пригнічується. Присутність глюкози викликає утворення проміжних продуктів, що містять високореактивні дікарбоніли, що в результаті призводить до незворотнього накопичення сполук кінцевих продуктів пізнього глікірування, скупчення яких визначають утворення дефектних форм колагену і активних форм кисню, викликаючи структурні зміни в кістках за допомогою посттрансляційних модифікацій [296, 346].

Ризик і ступінь втрати альвеолярної кістки позитивно корелює з відсутністю глікемічного контролю. Однак, якщо лікувати гіперглікемію і підтримувати рівень глюкози, близький до нормального, то імпланти будуть інтегруватися з більшою швидкістю в області кортикальної кістки [308].

У нашому дослідженні молекулярно-генетичне тестування пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, які потребують ортопедичного лікування з використанням дентальних імплантів, визначило групу «ризик» з функціонально неповноцінним алелем Т поліморфізму -1997G / Т гена Col1A1.

Серед молекул, залучених в ремоделювання кісткової тканини, важливу роль відіграють ферменти з групи матриксних металопротеїназ (MMPs). MMP є сімейство цинк і кальцій-залежних ендопептидаз, ферментів, які відповідають за розкладання компонентів позаклітинного матриксу, таких як колаген, протеоглікани, ламінін, еластин і фібронектин. Вони відіграють центральну роль в ремоделюванні періодонтальної зв'язки як в фізіологічних, так і в патологічних умовах. Вони секретуються у вигляді зімогенів (про-MMPs), які активуються різними протеїназами. MMP1-колагеназа відповідальна за деградацію колагену I, II і III типу, MMP9-желатиназа – за деградацію

колагену IV, V типів, а також еластину, фібронектину, ламініну і денатурованого колагену (желатину).

Генотипування обстежених пацієнтів показало, що функціональні алелі металопротеїназ MMP1-1607insG і MMP9 A-8202G становлять 68,2% і 45,5% відповідно. Мінорний алель 2G MMP1 був виявлений у 31,8% пацієнтів. Мінорний алель G гена MMP9 представлений у 54,5%. Гомозиготний генотип-2G / 2G і гетерозиготний G / 2G гена MMP1 становили 18,2% і 27,3%. Функціонально повноцінний генотип G/G мали 54,5% пацієнтів. Функціональний генотип AA -820 гена MMP9 представлений лише у 18,2% обстежених пацієнтів. Функціонально неповноцінні генотипи становили 27,3% для гомозиготного GG і 54,5% для гетерозиготного варіанту AG поліморфізму A-8202G гена MMP9 (табл. 5.5).

Введення гуаніну в положення -1607 гена MMP-1 людини створює алель 2G, який, як відомо, збільшує транскрипційну активність, змінює мінеральну щільність кістки і може впливати на процес остеоінтеграції [372].

Було показано, що алель 2G (вставка гуаніну в положення -1607 в області промотора людської матричної металопротенази 1 MMP-1) був присутній у 50% пацієнтів з ранньою втратою остеоінтегрованих оральних імплантатів, тобто даний поліморфізм може бути використаний в якості генетичного маркера «невдалих» імплантатів [332].

MMP-9 бере участь в процесах запалення, ремоделювання тканини, загоєння ран, мобілізації матрикс-пов'язаних факторів росту і процесингу цитокінів. У хворих зі зниженою МПК (остеопенія або остеопороз) достовірно частіше виявлявся алель G в поліморфній позиції -1562 гена MMP9 (OR = 1,92, p = 0,007) [153]. Поліморфізми в генах MMP в значній мірі пов'язані з рядом патологій зубів і кісток, і їх присутність в періімплантній рідині може спровокувати захворювання періімплантата з подальшою втратою кісткової маси. Зазвичай ці ферменти експресуються в дуже невеликих кількостях і їх транскрипція регулюється як в позитивну, так і в негативну сторону

гормонами, цитокінами і факторами росту. Регуляція активності ММР дуже важлива в процесах ремоделювання тканини і при запаленні.

В умовах надлишку глюкози ендотеліальні клітини і макрофаги людини виробляють більшу кількість ММР [184]. Було показано, що сироваткові рівні ММР1 діабетичних пацієнтів достовірно вище, ніж у осіб з нормальним метаболізмом глюкози. Аналіз розподілу генотипів у діабетичних пацієнтів виявив асоційованість генотипу 2G2G з високим рівнем ММР1 [214], що призводить до посиленої деградації фібрилярного колагену.

Гіперпродукція ММР-9 на фоні цукрового діабету 2 була встановлена у хворих з хронічним генералізованим пародонтитом ХГП [19]. Запалення критично впливає на остеоінтеграцію і успіх імплантації. Високий рівень ММР-9 в рановій рідині свідчить про запалення і є маркером поганого загоєння ран при цукровому діабеті [275].

Регуляція активності ферментів на посттрансляційному рівні здійснюється групою ендогенних білків, званих тканинними інгібіторами металопротеїназ (ТІМР) [363]. ТІМР-1 відіграє роль в регуляції активних форм ММР-1, ММР-3 і ММР-9 завдяки здатності утворювати комплекс з про-ММР-9, блокуючи активацію ферменту.

Серед обстежених пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу не було виявлено поліморфізму С536Т гена ТІМР-1. За даними літератури частота поліморфізму С536Т гена ТІМР-1 незначна.

На цілісність сполучних тканин, що оточують зубні імплантати, впливає баланс між ММР і ТІМР1. ТІМР1 конститутивно експресується на низькому рівні в багатьох тканинах, але в умовах запалення і пошкодження тканин експресія ТІМР1 зазвичай збільшується в порівнянні зі здоровою тканиною. В роботі [255] була досліджена концентрація ТІМР-1 в ясенній кривікулярній (щілинній) рідині у хворих з ЦД 2 типу. Концентрація ТІМР-1 у пацієнтів з ЦД були схожі з аналогічними показниками у пацієнтів з гінгівітом / хронічний генералізований пародонтит без ЦД, тому було зроблено

припущення, що ЦД не має істотного впливу на концентрацію T1MP-1 в ясневій кривікулярній рідині.

Наявність генетичного поліморфізму визначає схильність до збільшення транскрипційної активності ферментів, зміни мінеральної щільності кістки, розвитку запальних ускладнень, які посилюються наявністю цукрового діабету, що може вплинути на процес остеоінтеграції.

Метод дентальної імплантації в стоматологічній практиці в даний час набув широкого поширення. «Вживання» дентальних імплантатів спочатку залежить від успішності їх остеоінтеграції. Наявність цукрового діабету 2 типу у хворих, які потребують дентальної імплантації, істотно впливає на цей процес, оскільки при цукровому діабеті виникають незворотні порушення обмінних процесів, що впливають на щільність кістки.

До процесів остеоінтеграції імплантату залучаються мультипотентні мезенхімальні клітини за участю тканинних факторів росту. Тканинні фактори росту є потужними модуляторами зростання і розвитку тканин організму. Ці фактори ініціюють загоєння кісткової тканини, сприяють активації макрофагів, підсилюють ангиогенез, стимулюють утворення колагенових матриць, визначають фіксацію імплантату в кістковій тканині [155]. До них відносяться тромбоцитарний фактор росту, трансформуючий фактор росту, епідермальний фактор росту, судинні фактори росту, інсуліноподібний фактор росту та ін.

Одним з найбільш важливих факторів, що стимулюють проліферацію кісткової тканини і відіграють важливу роль в регуляції роботи імунної системи, є TGF- β 1 (трансформуючий фактор росту) [182]. Важливим фактором диференціювання остеобластів, а також зростання кістки, є і ген IGF-1 (інсуліноподібний фактор росту), який виробляється остеоцитами і зрілими остеобластами і депонується в кістки, вивільняючись в міру резорбції. Синтез кісткового колагену і зменшення деградації колагену, стимулювання проліферації остеобластів визначають структурно аналогічні поліпептиди, що регулюють гормон росту, фактори росту IGF-I і IGF-II [273]. На процес

остеоінтеграції впливає і наявність генетичного поліморфізму ДНК, що визначає схильність до збільшення транскрипційної активності ферментів, зміни мінеральної щільності кістки, розвитку запальних ускладнень, який посилюється при наявності цукрового діабету.

Тому важливе значення має доімплантаційне дослідження генетичних маркерів для розробки стратегії прогнозування та превентивної терапії успішної остеоінтеграції у пацієнтів з наявністю ЦД 2 типу.

Нами було проведено вивчення генетичного поліморфізму генів трансформуючого фактора росту TGF- β 1 T869C і інсулінових факторів росту IGF-1 2716G / A, IGF-2 3323 G / A у пацієнтів з ЦД 2 типу, які потребували ортопедичного лікування з використанням дентальних імплантатів.

Ген TGF- β 1 – регуляторний цитокін, який модулює імунну і запальну клітинну відповідь. TGF- β інгібує проліферацію більшості клітин, але може стимулювати зростання деяких мезенхімальних клітин, надавати імунодепресивну дію і зменшувати запалення, брати участь у відкладенні позаклітинного матриксу та сприяти загоєнню ран [210]. TGF-бета1 може бути одним з найбільш важливих факторів у відновленні тканин при стимуляції фібробластів і ендотеліальних клітин.

Результати дослідження поліморфізму T869C гена трансформуючого фактора росту (TGF- β 1) наведені в таблиці 5.6.

Було встановлено, що серед обстежених пацієнтів по поліморфізму T / C гена TGF- β 1 переважають гомозиготи по функціональній аллелі T (68,2%). Пацієнти з гомозиготним генотипом T / T і гетерозиготним генотипом T / C склали по 45,5% відповідно. Гомозиготний мінорний генотип C / C в даній вибірці пацієнтів було виявлено лише у 9%.

Таблиця 5.6

Частота народження алелів і генотипів генів трансформуючого фактора росту TGF- β 1 T869C і інсулінових факторів росту IGF-1 2716 G / A, IGF-2 3323 G / A у пацієнтів з цукровим діабетом, спрямованих на дентальну імплантацію

Алель, генотип	TGF- β 1 T869C	Алель, генотип	IGF-1 2716 G/A	Алель, генотип	IGF-2 3323 G/A
	n =11 (%)		n =11 (%)		n =11 (%)
T	15(68,2)	G	11(50)	G	7(31,8)
C	7(31,8)	A	11(50)	A	15(68,2)
T/T	5(45,5)	G/G	5(45,5)	G/G	0
T/C	5(45,5)	G/A	1(9,0)	G/A	7(63,6)
C/C	1(9,0)	A/A	55(45,5)	A/A	4(36,4)

Відомо, що однонуклеотидний поліморфізм T869C пов'язаний зі зміненою експресією білка TGF β 1 і що алель C позитивно корелює з концентрацією TGF β 1 в сироватці крові, в той час як алель T поліморфізму T869C пов'язаний зі зниженням експресії TGF β 1 [221]. Наявність алеля C пов'язано зі зниженням мінеральної щільності кістки [190]. У пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу виявлена асоціація алеля гену TGF-бета T869C з діабетичними мікросудинними ускладненнями [93]. Однак, наявність тільки однонуклеотидних поліморфізмів в гені TGF- β 1 не є генетичним фактором ризику невдалої імплантації [58]. Було встановлено, що поєднання високого рівня глюкози і кінцевих продуктів глікірування пригнічує остеобластне диференціювання або мінералізацію людських мезенхімальних стовбурових клітин шляхом зменшення експресії остерікса, збільшення трансформуючого ростового фактора TGF- β і пригнічення стресових білків ЕПР [4], що сприяє

низькому кістковому ремоделюванню. При ЦД 2 типу значно підвищуються рівні TGF- β 1 в сироватці крові і сечі [296].

Запальний процес, викликаний ушкодженням тканини під час імплантації, стимулює вивільнення бета-білка TGF. При недостатній експресії TGF- β порушується регуляція виробництва імуносупресивних цитокінів, включаючи IL-4 і IL-10. Фактор TGF- β пригнічує гемопоез, синтез запальних цитокінів, відповідь лімфоцитів на IL-2, -4 і -7, формування цитотоксичних NK і Т-клітин і в той же час посилює синтез білків міжклітинного матриксу, сприяє загоєнню ран, має анаболічну дію [311].

Відповідальним за подальшу диференціацію остеобластів і зростання кістки є інсуліноподібний фактор росту I (IGF-I). Система IGF складається з трьох лігандів (IGF-1, IGF-2 і інсуліну), чотирьох рецепторів клітинної мембрани [IGF-рецептор типу 1 (IGF-1R), ізоформи рецептора інсуліну A (IR-A), гібридних рецепторів і IGF-рецептор типу 2 (IGF-2R)] і шість IGF-зв'язуючих білків (IGFBP1-6) [313]. IGF-I – головний представник сімейства інсуліноподібних факторів росту, що здійснюють ендокринну, аутокринну і паракринну регуляцію процесів росту. IGF-1 виробляється остеоцитами і зрілими остеобластами і депонується в кістки, вивільняючись в міру резорбції. IGF-I структурно гомологічний до інсуліну і здатний надавати інсуліноподібний метаболічний ефект, може знижувати рівень глюкози і пригнічувати інсулінорезистентність [110].

Генотипування обстежених пацієнтів показало (табл. 5.5), що частота алелей (2716 G / A, rs6214) інсулінового фактора росту IGF-1 G і A однакова і становить 50%, що трохи перевищує популяційні показники по Європі. Також рівно представлені і гомозиготні генотипи G/G і A/A – по 45,5%. Гетерозиготний генотип G/A гена IGF-1 мали 9% пацієнтів.

Мутований ген A для rs6214 (G> A) має більш низькі рівні експресії гена IGF1 [374]. При цукровому діабеті рівень IGF-1 знижений [168]. Ступінь зниження IGF-1 тим більше, чим більш виражені порушення вуглеводного обміну. Основним фактором, що регулює продукцію IGF-I, є гормон росту.

Низький рівень IGF-I також є біохімічним маркером погіршення анаболічних процесів. Багато експериментальних досліджень показали, що експресія IGF-I відіграє важливу роль у формуванні кістки і її втраті [335]. Підвищення синтезу інсуліноподібного фактору росту є ранньою відповіддю кісткової тканини на механічне навантаження. IGF-I діє і на процеси загоєння ран, в тому числі на міграцію в раневу область нейтрофілів, моноцитів і фібробластів, що передують клітинній активації з утворенням факторів росту і цитокінів. Цей ефект виявляється практично у всіх тканинах. Репарація ран в багатьох тканинах вимагає збільшення вмісту IGF-I в місці пошкодження. У хворих на ЦД пошкодження тканин відбувається за рахунок змін, викликаних глікозілюванням. Розвиток проліферативних процесів сприяє підсиленню дії IGF-I на надходження глюкози в клітини, яке не зменшується, а посилюється при гіперглікемії, що індукує клітинну гіпертрофію і гіперплазію, стимулює процеси неоваскуляризації [17]. Інсулін і IGF-I розглядаються як єдина сигнальна система, яка регулює метаболізм і процеси клітинного росту і диференціації [106].

Роль цитокінів в остеоінтеграції при кістковій пластиці була досліджена на експериментальній моделі на тваринах – спільне застосування IGF-1 та PDGF позитивно впливало на інтеграцію трансплантатів [330].

IGF1 і IGF2 структурно аналогічні поліпептиди, що регулюють гормон росту, беруть участь як в розвитку людини, так і в підтримці нормальної функції і гомеостазу у більшості клітин людини. Було показано, що в утворенні кісток і диференціювання остеобластів IGF-2 потенціює кістковий морфогенетичний білок-9 (BMP-9), який належить до суперсімейства трансформуючих факторів зростання- β (TGF- β) [195]. Синтез протеогліканів в значній мірі залежить від концентрації IGF-2, що надходить в періімплантатну зону при ретракції кров'яного згустку.

Генотипування по поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів полімеразної ланцюгової реакції ми використовували для виявлення поліморфізмів генів IGF-2 (rs680). Була досліджена частота народження алелів

і генотипів поліморфізму 3323 G / A гена IGF-2 у пацієнтів з ЦД 2 типу, спрямованих на дентальну імплантацію (табл. 5.4). Встановлено, що серед обстежених пацієнтів із поліморфізму 3323 G / A гена IGF-2 переважає мінорний алель A (68,2%). Алель було G виявлено у 31,8% пацієнтів. Гомозиготний генотип GG в нашій вибірці пацієнтів не виявлено. Алель G представлений тільки в гетерозиготній формі Ga в 63,6%. Частота мінорного генотипу AA становила 36,4%.

Ген інсуліноподібний фактор росту II типу локалізується в короткому плечі одинадцятої хромосоми – 11q15,5. Даний фактор також відомий під назвою соматомедин A. Інсуліноподібний фактор росту II типу, як і інші представники даного сімейства факторів росту, має потужний мітогенний вплив, прискорює клітинне диференціювання і пригнічує апоптоз [227]. Про функціональні ролі досліджуваного поліморфізму (3123 G / A IGF II) можна судити, виходячи з даних дослідження [359], згідно з якими носії GG поліморфного варіанту відрізняються підвищеною кількістю мРНК IGF II у пацієнтів з цукровим діабетом. IGF-II Aral A-варіант має більш низькі циркулюючі рівні цього потужного чинника зростання в порівнянні з тими, у кого цей варіант відсутній. Циркулюючі рівні IGF-II змінюються дуже мало протягом життя або в зв'язку з патологією. У разі генотипу GG в порівнянні з генотипами AG і AA спостерігали значне збільшення середніх значень ваги, індексу маси тіла, інсуліну натще і оцінки гомеостатичної моделі – резистентності до інсуліну, що передбачає зв'язок генотипу GG і алелі G з ожирінням і резистентністю до інсуліну [354, 377].

Таким чином, отримані результати досліджень і дані літератури свідчать про те, що фактори росту роблять визначальний вплив на швидкість і якість репаративних процесів у хворих на ЦД при дентальній імплантації. Передопераційна підготовка при дентальній імплантації має включати лабораторні дослідження, спрямовані на оцінку генетичних факторів, які впливають на osteointegraцію і можливу довговічність зубних імплантатів.

Тобто генетичний аналіз має використовуватися профілактично, як частина планування імплантації.

5.3 Метилювання генів у пацієнтів при цукровому діабеті

Стани з високим ризиком розвитку цукрового діабету і метаболічного синдрому створюють передумови до формування запально-деструктивних уражень пародонту, що необхідно враховувати при ортопедичному та ортодонтичному лікуванні таких пацієнтів [134].

У пацієнтів з МС і при ЦД 2 типу епігенетичні механізми можуть бути залучені до регуляції генів, які диференційовано експресуються. Порушення механізмів епігенетичної регуляції безпосередньо або побічно пов'язане з безліччю захворювань. Це відноситься і до довгих вкраплень послідовностей ядерного елемента 1 (LINE1), який є маркером глобального метилювання ДНК генома [298]. Елементи LINE1 представляють собою сімейство отриманих з транспозони послідовностей повторів, диспергованих в геномі [265]. Довгі ядерні елементи LINE1, які чергуються, або ретротранспозони, складають близько 17% ДНК людини. Вони використовують «механізм» копіювання та «вставки» для поширення себе по всьому геному через проміжні РНК (ретротранспозиція) [28]. LINE1 починаються з нетрансльованій області (UTR), яка включає в себе промотор РНК – полімерази II, дві відкриті рамки зчитування (ORF1 і ORF2), що не перекриваються, і закінчується з іншим UTR. Вбудовуючись в геном, L1 елементи можуть змінювати рівень транскрипції гену. Одним з основних механізмів регуляції експресії ретротранспозону LINE1 є метилювання ДНК. У соматичних клітинах метилювання ДНК відповідально за підтримку і реалізацію таких фундаментальних біологічних процесів, як інактивація X-хромосоми, геномний імпрінтинг, регуляція тканинспецифічної експресії генів, репресія ретротранспозончв в геномі [64]. Однак, зміна рівня метилювання ДНК відбувається і при патологічних процесах, які проявляються зі збільшенням віку, в тому числі при

атеросклерозі, артеріальній гіпертензії, МС, ЦД 2 типу [192, 356, 367]. Промоторні регіони ретротранспозону містять велику кількість CpG-сайтів, які зазвичай характеризуються високим рівнем метилювання. Підвищений рівень експресії мобільного елемента супроводжується частковим деметилюванням промоторів LINE1 в 5'-UTR регіоні [16]. Таким чином, стан метилювання LINE1 представляє інтерес як перспективний діагностичний біомаркер і терапевтична мішень для діагностики, прогнозування і терапії багатофакторних захворювань.

У даній роботі була зроблена спроба оцінки можливості використання аналізу аберантного метилювання LINE1 для оцінки прогресії метаболічного синдрому, діабету 2 типу на фоні хронічного генералізованого пародонтиту при дентальній імплантації.

Було проведено вивчення метилювання довгих повторюваних послідовностей гена LINE1 у хворих, спрямованих на дентальну імплантацію, з ХГП (5 осіб), з ХГП, що протікає на фоні ЦД 2 типу (4 особи), і з ХГП, що протікає на фоні МС (5 осіб). Аналіз метилювання проводили в тканинах ясен і в крові пацієнтів.

В результаті проведеного аналізу було показано, що в тканинах ясен метилювання ДНК LINE1 у хворих з ХГП і МС було достовірно нижче ($77,4 \pm 1,7$), ніж у пацієнтів з ХГП ($81,5 \pm 1,8$) (табл. 5.7).

Аберантне метилювання LINE1 в тканинах пародонта у пацієнтів з ХГП на фоні ЦД 2 типу було достовірно нижче ($68,3 \pm 2,3$), ніж у хворих з МС ($77,4 \pm 3,0$). Вивчення змісту метильованої ДНК LINE1 в крові у пацієнтів з ХГП і супутнім цукровим діабетом та метаболічним синдромом показало достовірну відмінність у вмісті метильованої ДНК LINE1 в крові у пацієнтів з цукровим діабетом в порівнянні з пацієнтами з пародонтитом і пацієнтами з метаболічним синдромом.

У крові пацієнтів з метаболічним синдромом вміст метильованої ДНК LINE1 був нижче ($75,5 \pm 2,1$) ніж у пацієнтів з ХГП ($81 \pm 2,2$), але вище ніж у пацієнтів з цукровим діабетом $69,1 \pm 2,7$. Тобто закономірність зміни ступеня

метильовання ДНК LINE1 в тканинах пародонта і крові однакова, що передбачає можливість в подальшому використанні крові як більш зручного біологічного зразка для клінічних та епідеміологічних цілей (табл. 5.7).

Таблиця 5.7

Вміст метильованої ДНК в промоторі гена LINE1 у пацієнтів із запальними захворюваннями пародонту, метаболічним синдромом, цукровим діабетом

Групи пацієнтів (n=14)	Вміст метильованої ДНК в промоторі гена LINE1, %	
	Тканини ясен	Кров
ХГП (n=5)	81,5±1,8	81±2,0
ХГП + МС (n=5)	77,4±1,7 p=0,01	75,5±2,1 p=0,04
ХГП + ЦД 2 типу (n=4)	68,3±2,3 p=0,005	69,1±2,7 p=0,01

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від групи «ХГП».

Достовірно зниження рівня метильованої ДНК LINE1 в крові хворих з діабетом та метаболічним синдромом в порівнянні з пацієнтами без цієї патології говорить про зацікавленість епігенетичного контролю функції ретротранспозонів в розвитку цукрового діабету і метаболічного синдрому.

На рисунку 5.1 представлені дані кількісного секвенування послідовності LINE1 в тканинах пародонта у хворих з парадонтитом, ЦД 2 типу та МС.

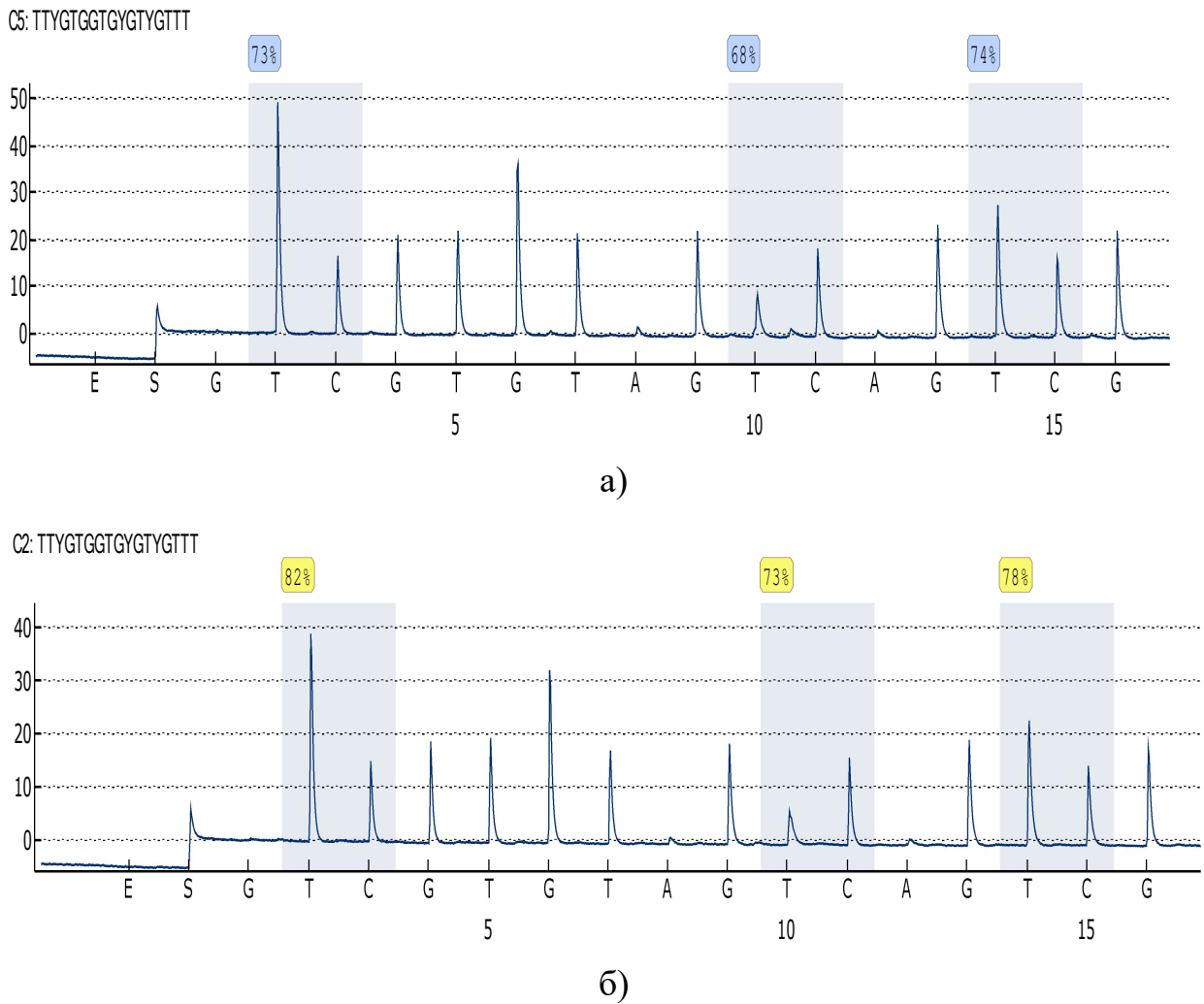


Рис. 5.1. Пірограма секвенування CpG сайтів метилювання LINE1 в тканинах ясен у пацієнтів із цукровим діабетом (а) і метаболічним синдромом (б) на фоні хронічного генералізованого пародонтиту

В роботі [356] було проаналізовано рівні метилювання ДНК LINE1 в зв'язку з ризиком розвитку метаболічного синдрому. Показано, що рівень метилювання ДНК LINE1 від 67 до 73,8% асоційований з високим ризиком розвитку важкого метаболічного синдрому (OR 4,4; $p = 0,004$). При ступені метилювання в діапазоні 75-77,3% ризик був нижче (OR 1,8; $p = 0,2$).

За нашими даними у групі пацієнтів з ХГП і з ЦД 2 типу рівень метильованої ДНК LINE1 також відповідав високому ризику розвитку МС. Оцінка рівня метилювання ДНК у пацієнтів з ХГП різного ступеня вираженості (без ЦД і МС) не виявила достовірної різниці.

Зниження вмісту метильованої ДНК LINE1 в тканинах ясен у пацієнтів з ХГП в нашому випадку прямо пропорційно корелювало зі зниженням вмісту метильованої ДНК гена IL-6, $r = 0,61$ (рис. 5.2). Ген IL-6 відіграє важливу роль в розвитку цукрового діабету і резистентності до інсуліну [78]. Зазвичай, зниження вмісту метильованої ДНК гена IL-6 призводить до підвищення експресії цитокінів та розвитку прозапальних реакцій [299].

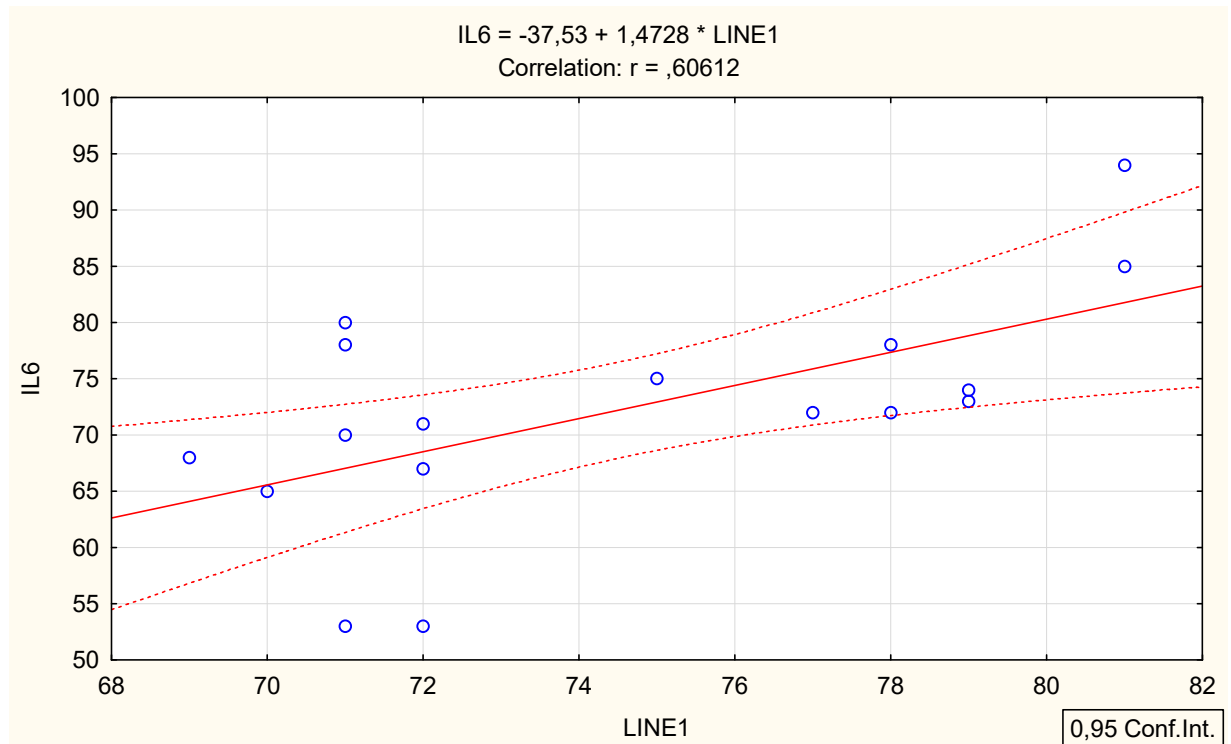


Рис. 5.2 Кореляція між вмістом метильованої ДНК LINE1 і гена IL-6 в зразках тканини ясен у пацієнтів з ХГП

Бісульфітне секвенування повторюваних елементів, що виконується для LINE1, є швидким і простим методом оцінки глобального метилювання ДНК, який можна використовувати для розробки таргетної терапії та оцінки її ефективності при ортопедичному та ортодонтичному лікуванні.

Хронічний генералізований пародонтит – одне з найпоширеніших стоматологічних захворювань [232]. У патогенезі ХГП і його прогресуванні важлива роль належить механізмам резорбції кісткової тканини, тобто переважання остеокластичних процесів над остеобластичними [200]. Цей механізм індукує запальні цитокіни. IL-6 – ранній індукуючий цитокін. З його

активацією пов'язано диференціювання остеокластів і прогресія ХГП. ІЛ-6 не тільки підсилює функціональну активність остеокластів і фібробластів, але і є цитокіном, що має як прозапальну, так і протизапальну функції. Цим пояснюється його здатність, залучаючи моноклеари, переводити гостре запалення в хронічне [100].

Важливу роль в руйнуванні тканин пародонта відіграють матриксні металопротеїнази (ММР) [163]. Вони являють собою сімейство цинк (Zn) і кальцій (Ca) -залежних ендопептідаз, які здатні розщеплювати практично всі субстрати позаклітинного матриксу та відіграють важливу роль в різноманітних фізіологічних і патологічних процесах, які сприяють деградації і видаленню колагену з пошкодженої тканини. ММР13 (коллагеназа-3) секретується епітеліальними клітинами у відповідь на дію різних екзогенних факторів, а також фібробластами, макрофагами.

Метаболічний синдром виникає з прозапального стану, яке може виникнути в результаті впливу резистентності до інсуліну. При ожирінні і інсулінорезистентності виявляються підвищені рівні циркулюючих медіаторів запалення TNF, ІЛ-1, ІЛ-6 [203]. Наявність метаболічного синдрому, як стану з високим ризиком розвитку цукрового діабету, створює передумови до формування запально деструктивних уражень пародонта, про що свідчить спільність ряду патогенетичних механізмів розвитку цих захворювань [134].

Епігенетичні модифікації контролюють всі стадії розвитку і функціональну активність клітин. Порушення механізмів епігенетичної регуляції безпосередньо або побічно пов'язане з безліччю захворювань. Епігенетичні модифікації, включаючи метилювання ДНК, є ключовими регуляторами функції генів.

Було проведено вивчення метилювання ДНК для оцінки епігеномних варіацій промоторів генів ІЛ-6 і ММР13 у пацієнтів з хронічним захворюванням пародонту на фоні метаболічного синдрому і ЦД 2 типу, спрямованих на ортодopedичне лікування з використанням імплантатів [126].

Метилування ДНК являє собою ферментативний процес ковалентного приєднання метильних груп до п'ятого атому вуглецю залишків цитозину, що входять до складу CpG-динуклеотидів (CpG-сайтів) і є епігенетичним регулятором експресії генів на посттранскрипційному рівні. Метилування забезпечує динамічну зміну основних клітинних процесів. Аберация експресії РНК або метилування ДНК є причиною різних захворювань [220].

У нашому дослідженні ми провели аналіз метилування промотору гена ІЛ-6 в зразках тканини ясен у пацієнтів з ХГП, ХГП і метаболічним синдромом, ХГП і цукровим діабетом 2 типу (табл. 5.8).

Таблиця 5.8

Вміст в тканинах ясен метильованої ДНК в промоторі гена ІЛ-6 у пацієнтів із запальними захворюваннями пародонту, метаболічним синдромом і цукровим діабетом 2 типу

ХГП (n = 5)	ХГП + МС (n = 5)	ХГП + МС + ЦД 2 типу (n = 4)
83,70 ± 7,8	73,4 ± 10,8	59,7 ± 5,0
	p > 0,05	p < 0,03

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від групи «ХГП».

Наявність МС при ХГП призводить до зменшення ступеня метилування (73,4 ± 10,8) порівняно з пацієнтами з ХГП (83,70 ± 7,8). При наявності додатково до метаболічного синдрому цукрового діабету 2 типу вміст метильованої ДНК в промоторі гена ІЛ-6 був нижче, ніж при наявності тільки МС (рис. 5.3).

Прозапальні цитокіни відіграють визначальну роль у розвитку і прогресії хронічних запальних процесів, в тому числі ХГП [337].

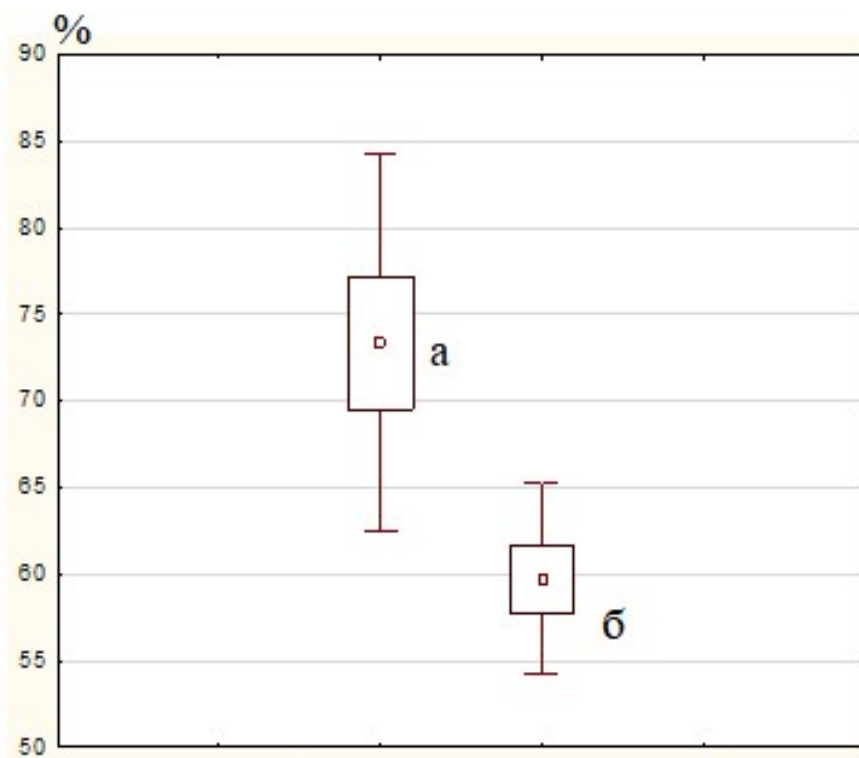


Рис. 5.3. Порівняльний аналіз метилювання в тканинах ясен промотора ІЛ-6 у пацієнтів з метаболічним синдромом (а) і метаболічним синдромом в поєднанні з цукровим діабетом (б)

Експресія гена ІЛ-6, як правило, здійснюється під впливом проникаючих в організм вірусів, бактерій і продуктів їх життєдіяльності. Основна його функція – активація проліферації специфічних до антигену В-лімфоцитів і посилення вироблення антитіл. ІЛ-6 разом з іншими цитокінами в активній фазі імунної відповіді модулює реакцію на бактерії порожнини рота. Підвищена експресія ІЛ-6 може внести свій вклад в розвиток хронічного запального процесу в порожнині рота і в результаті призвести до втрати періодонтальної зв'язки і альвеолярної кістки. Місцева тканинна експресія ІЛ-6 ймовірно пов'язана з активацією макрофагів, нейтрофілів, ендотеліальних клітин і фібробластів. Дійсно, тривале надмірне вивільнення ІЛ-6 (яке може бути спровоковано бактеріями порожнини рота, такими як *Aggregatibacter actinomycetem-comitans* і *Lactobacillus Casei*) може призвести до персистуючого запалення і пошкодження тканин через вивільнення протеаз,

активації остеокластів і зміни метилювання прозапальних генів [181]. IL-6 може також блокувати диференціювання остеокластів шляхом пригнічення RANKL-RANK сигнального шляху. Тобто дія IL-6 може бути двоякою і стимулювати як активізацію диференціювання остеокластів, так і блокування диференціювання проостеокластів [376].

Метилювання промотора IL-6 регулює експресію цього цитокіну. Зниження вмісту метильованої ДНК гена IL-6 призводить до підвищення експресії цитокінів та розвитку прозапальних реакцій [299]. Слід зазначити взаємозв'язок між підвищенням експресії IL-6, метилюванням промотора IL-6 і розвитком ожиріння і діабету [294].

Отримані нами дані показують, що ступінь метилювання промотору гена IL-6 в досліджених групах пацієнтів зменшується як зі збільшенням ступеня розвитку ХГП, так і з різним ступенем тяжкості перебігу метаболічного синдрому у цих пацієнтів, що потенційно призводить до збільшення експресії IL-6. Цей процес посилюється на фоні метаболічного синдрому і ЦД 2 типу. Механізм тканинної деструкції, змодульованої IL-6, реалізується через продукцію металопротеїназ, активацію остеокластів, активацію Т-клітин або гіперактивацію прозапального каскаду.

У розвитку і прогресії хронічних запальних процесів, в тому числі і ХГП, беруть участь металопротеїнази. MMP13 відіграє роль в загоєнні ран, ремоделюванні тканини, деградації хряща, розвитку кісткової тканини, мінералізації кісток та їх закріпленні. MMP13 розщеплює колаген I, III, IV, IX, XIV типу, желатин, агрекан, фибронектин, остеоонектин, але має найвищу активність до колагену II типу [287]. ХГП характеризується підвищеною експресією MMP13 [239]. Експресія гена регулюється шляхом метилювання промотору, модифікації гістонів і miRNA.

Проведене нами вивчення метилювання промотора металопротеїнази MMP13 в зразках тканини ясен пацієнтів з ХГП і з ХГП на фоні МС і ЦД 2 типу показало, що МС і ЦД 2 типу в поєднанні з МС додатково знижували в тканинах ясен вміст метильованої ДНК в промоторі гена MMP13 (табл. 5.9).

Таблиця 5.9

Вміст в тканинах ясен метилірованої ДНК в промоторі гена MMP13 у пацієнтів із запальними захворюваннями пародонту і метаболічним синдромом, %

ХГП (n = 5)	ХГП + МС (n = 5)	ХГП + МС + ЦД 2 типу (n = 4)
67,4±8,1	62,1±8,5	53,2±2,9
	p>0,05	p<0,02

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від групи «ХГП».

Так, у пацієнтів з метаболічним синдромом вміст метильованої ДНК MMP13 в зразках ясен склав $62,1 \pm 8,5\%$, а при поєднанні з ЦД – $53,2 \pm 2,9\%$ (рис 5.4).

Раніше було показано, що зниження метильованої ДНК MMP13 в зразках у хворих з метаболічним синдромом може бути пов'язано з метаболічним синдромом та ожирінням [244]. За даними авторів роботи [246] активація експресії лептину шляхом деметилування промотора цього гена призводить до підвищення експресії MMP13. Крім того, підвищення експресії MMP13, обумовлене деметилуванням промотора цього гена, може бути пов'язано з хронічним запаленням і синтезом тканинних макрофагів і лімфоцитами IL-6, який активує синтез металопротеїнази MMP13 [196].

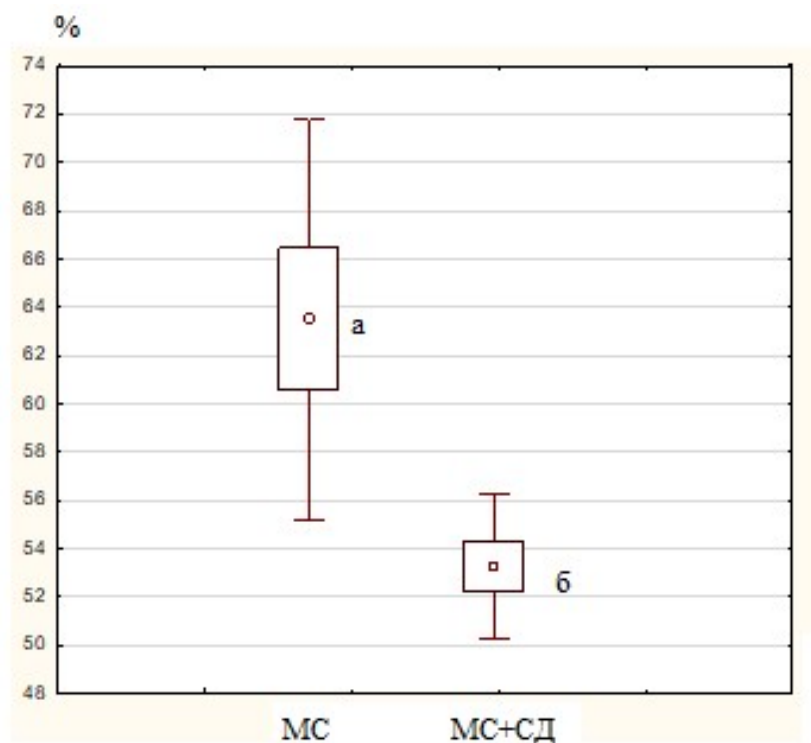


Рис. 5.4. Порівняльний аналіз вмісту (%) метильованої ДНК гена MMP13 в зразках тканини ясен у пацієнтів з метаболічним синдромом (а) і у пацієнтів з метаболічним синдромом поєднанні з цукровим діабетом 2 типу (б)

При порівнянні в нашому дослідженні ступеня метилювання промоторів гена IL-6 і гена MMP13 в зразках тканини ясен спостерігався високий ступінь їх кореляції (рис. 5.5).

Активація антигенпрезентуючих клітин у відповідь на мікробний стимул, призводить до активації Т і В- лімфіцитів, макрофагів, нейтрофілів, викиду прозапальних цитокінів, які сприяють підвищенню експресії сімейства металопротейназ. Хронізація запального процесу призводить до стійкого підвищення прозапальних цитокінів, підвищеного синтезу металопротейназ, в тому числі MMP13, що в свою чергу може призводити до руйнування тканини, лизису альвеолярної кістки і руйнування зубів [349]. Ці процеси можуть посилюватися на фоні метаболічного синдрому.

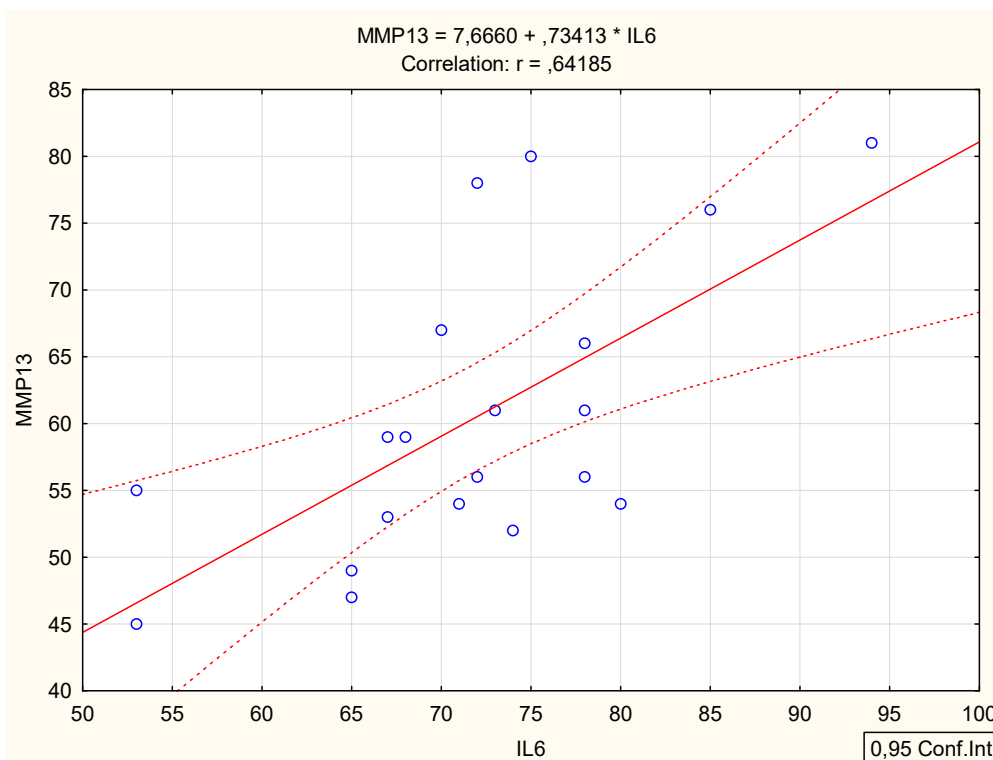


Рис. 5.5. Кореляція між метилюванням промотора ІЛ-6 і метилюванням MMP13 в тканинах ясен у пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом на фоні метаболічного синдрому

Таким чином, гіпометилювання промотора MMP13 пов'язано з розвитком ХГП і його прогресією на фоні метаболічного синдрому і діабету 2 типу.

Зниження метилювання промотора MMP13 у пацієнтів з ХГП 2-3 стадії в порівнянні з метилюванням MMP13 у пацієнтів з ХГП 1 ступеня може призводити до підвищення експресії цього гена і підвищення вмісту металопротеїнази в тканинах пародонта і слині. Проведене нами дослідження вмісту MMP13 в слині хворих з ХГП 2-3 стадії показало достовірне підвищення вмісту протеїнази у цієї групи хворих у порівнянні з хворими з легким ступенем ХГП (табл. 5.10). Так само було виявлено достовірне підвищення експресії ІЛ-6 в ротовій рідині хворих з ХГП 2-3 ступеня, що може бути обумовлено зниженням метилювання промотору цього гена, як було показано вище.

Таблиця 5.10

Вміст цитокінів ІЛ-6 , MMP13 в ротовій рідині у хворих на хронічний генералізований пародонтит різного ступеня, пг/мл

Ген	Вміст цитокінів в ротовій рідині	
	ХГП 1 ступеня	ХГП 2-3 ступеня
ІЛ-6	95,0 ± 22,9	175,1 ± 34,3 p=0,014
MMP13	40,6 ± 16,6	186,2 ± 39,9 p=0,004

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від групи «ХГП 1 ступеня».

Виявлене в результаті дослідження зниження метилювання промотора гена ІЛ-6 призводить до підвищення експресії і збільшення концентрації ІЛ-6 в осередку запалення. Це в свою чергу веде до підвищення експресії металопротеїнази MMP13. Як описано вище, в результаті статистичного аналізу була виявлена позитивна кореляція між вмістом ІЛ-6 і MMP13 у хворих з ХГП. Кореляційний аналіз між вмістом ІЛ-6 і MMP13 в ротовій рідині пацієнтів з ХГП показав високий позитивний взаємозв'язок ($r = 0,50$) цих цитокінів (рис. 5.6). Тобто спостерігається асоціація гіпометилювання промоторів генів ІЛ-6 і MMP13 з їх активацією.

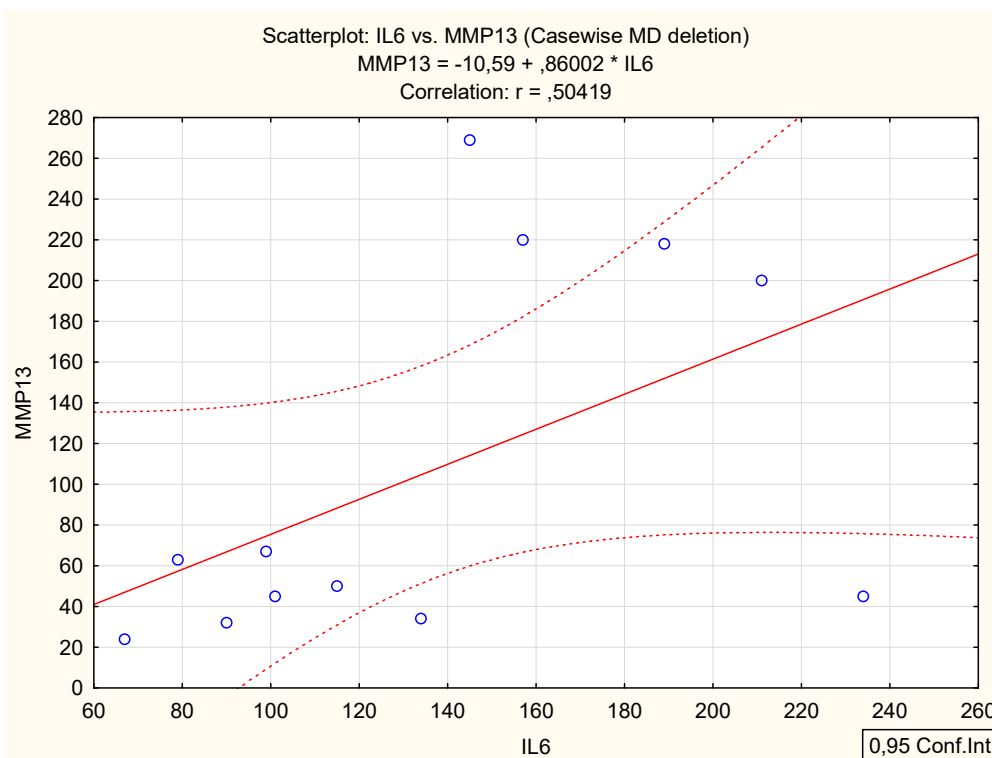


Рис. 5.6. Кореляційна залежність між вмістом ІЛ-6 і MMP13 в слині у пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом

Таким чином, гіпометилування промоторів генів ІЛ-6 і MMP13 у пацієнтів з ХГП на фоні МС і ЦД 2 типу призводить до активації цих генів, підвищення синтезу прозапальних цитокінів ІЛ-6 і металопротеїнази MMP13, що веде до руйнування тканин в осередку запалення і збільшення перебігу ХГП.

Висновки до розділу 5:

– При плануванні ортопедичного і ортодонтичного лікування і розробці лікувально-профілактичних заходів супроводу такого лікування у пацієнтів з метаболічними порушеннями, в першу чергу необхідно враховувати для прогнозування ускладнень і виникнення та прогресування захворювань тканин пародонта стан маркерів остеогенезу CollA1 і VDR, ендотеліального фактора VEGF, фактора антиоксидантного захисту PON,

маркерів метаболізму ліпопротеїнів АРОЕ, проліферації остеобластів TGF і маркера реакції кісткових тканин на навантаження NOS.

– Молекулярно-генетичне тестування поліморфізму генів Col1A1 - 1997G/T, MMP1-1607insG, MMP9 A-8202G, TIMP1C536T пацієнтів з ЦД 2 типу, які потребують ортопедичного лікування з використанням дентальних імплантатів визначило групи «ризик».

– Пацієнти з функціонально неповноцінним алелем T поліморфізму -1997G / T гена Col1A1 становили 9%.

– Функціонально неповноцінні алелі генів MMP1-1607insG і MMP9 A-8202G були виявлені у 31,8% і 54,5% пацієнтів відповідно. Серед обстежених пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу не виявлено поліморфізму C536T генаTIMP-1.

– Молекулярно-генетичне тестування поліморфізму генів трансформуючого фактора росту TGF T869C і інсулінових факторів росту IGF1 2716G / A, IGF2 3323 G / A у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, які потребують ортопедичного лікування з використанням дентальних імплантатів виявило, що 31,8% пацієнтів є носіями алелі C поліморфізму T869C гена TGF- β 1, 45,5% в гетерозиготній формі T / C і 9% в гомозиготній CC, що передбачає у даних пацієнтів зниження мінеральної щільності кістки і діабетичних мікросудинних ускладнень. Наявність мутованого алеля A поліморфізму 2716G/A гена IGF-1 у 50% обстежених пацієнтів обумовлює більш низькі рівні експресії гена IGF-1, що посилюються наявністю діабету. Мінорний алель аполіморфізму 3323 G/A гена IGF-2 переважав в даній групі пацієнтів (68,2%), частота мінорного генотипу AA становила 36,4%, що пов'язано з низькими циркулюючими рівнями інсулінового фактора росту 2. В нашій вибірці пацієнтів гомозиготний генотип GG не був знайдений. Ортопедичне лікування пацієнтів з цукровим діабетом з використанням імплантатів має супроводжуватися проведенням лікувально-профілактичних заходів, що впливають на їх остеоінтеграцію.

– У пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом було виявлено достовірне додаткове зниження рівня метильованої ДНК LINE1 в тканинах ясен і крові з ЦД 2 типу та метаболічним синдромом у порівнянні з пацієнтами без метаболічних порушень.

– Вміст метильованої ДНК LINE1 в тканинах ясен у пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом корелює зі вмістом метильованої ДНК гена IL-6 .

– Не виявлено достовірної різниці між метилюванням ДНК LINE1 у пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом різного ступеня тяжкості (без ЦД 2 типу та МС).

– Ступінь метилювання промотора гена IL-6 зменшується як зі збільшенням ступеня розвитку хронічного генералізованого пародонтиту, так і з наявністю метаболічного синдрому. Цей процес посилюється на фоні поєднання МС та ЦД 2 типу.

– Проведений кореляційний аналіз між ступенем метильованої ДНК генів IL-6 і MMP13, а також вмістом IL-6 і MMP13 в ротовій рідині пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом показав високий позитивний взаємозв'язок цих цитокінів.

– Отримані результати необхідно враховувати при розробці лікувально-профілактичного комплексу супроводу ортопедичного лікування пацієнтів з МС і ЦД 2 типу.

Матеріали розділу опубліковані в працях [7-10], наведених у додатку А.

РОЗДІЛ 6 КЛІНІЧНА ТА КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ КОМПЛЕКСНОГО ОРТОПЕДИЧНОГО ЛІКУВАННЯ ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

6.1 Клінічна ефективність лікувально-профілактичних заходів супроводу ортопедичного лікування пацієнтів з цукровим діабетом

При цукровому діабеті в організмі мають місце порушення жирового і вуглеводного обміну, кісткового метаболізму, судинні порушення, що призводить до запально-дистрофічних процесів, в тому числі і в порожнині рота, і істотно можуть впливати на процес ортопедичного лікування пацієнтів з використанням імплантатів [6, 8, 45, 61, 83, 357]. В цьому випадку для запобігання ускладнень таке лікування необхідно проводити в супроводі спеціальної лікувально-профілактичної терапії [15, 56, 77, 85, 92, 97, 137].

Нами була проведена також клінічна оцінка ефективності розробленого і апробованого в експерименті на щурах лікувально-профілактичного комплексу супроводу ортопедичного лікування з використанням імплантатів у пацієнтів з ЦД 2 типу [118, 119, 120].

Клінічні дослідження стоматологічного статусу пацієнтів з ЦД 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування, передбачали оцінку ускладнень після операції стану твердих тканин зубів, ступеня запалення тканин пародонта, кровоточивості ясен і рівня гігієни порожнини рота.

Після обстеження всі пацієнти були розділені на практично ідентичні в початковому стані групи – основну і групу порівняння. У групі порівняння базова терапія включала санацію порожнини рота, професійну гігієну і протизапальні препарати. В основній групі додатково використовувався розроблений лікувально-профілактичний комплекс (табл. 2.1).

Ускладнення після операції були розділені на 3 ступеня [97]. При легкому ступені через 7 днів спостерігалось загоєння рани первинним натягом

без особливостей. Через 2 тижні з'являлися незначні больові відчуття, незначна гіперемія слизової оболонки в місці позиціонування імплантату, злегка болюча пальпація в цій області, які через 3-4 тижні зникали. Через 3 місяці на рентгенограмі спостерігалася незначна дезінтеграція в області пришийкової частини імплантату, кісткова тканина без видимих патологічних змін, при пальпації відчувається деякий дискомфорт. Через 6 місяців слизова оболонка була без патологічних змін, на рентгенограмі залишалась незначна дезінтеграція в пришийковій області імплантату, що оточує кісткові тканини, мали місце тенденції до ущільнення.

При середньому ступені ускладнень через 7 днів після операції і після зняття швів зазначалася часткова розбіжність країв рани в місці позиціонування імплантату, невелике гнійно-геморагічне виділення з неї, слизова оболонка альвеолярного відростка була набряклою і гіперемованою, був різкий біль при пальпації. Через 3 місяці зберігався свищевий хід з малим гнійно-серозним виділенням, зберігалась болючість при пальпації. На рентгенограмі відзначалась дезінтеграція імплантату з однієї із сторін (медіальної та дистальної) на одну третину його довжини, що оточують кісткові структури, без чіткого переходу в здорову тканину. Через 6 місяців відзначалося часткове оголення пришийкової частини імплантату, була болючість при пальпації, слизова оболонка була незначно набрякла і гіперемована, невелике серозно-гнійне виділення з патологічної кишені. На рентгенограмі спостерігалася часткова дезінтеграція на одну третину довжини імплантату, кісткові структури були без ознак патологічних змін.

Тяжкий ступінь ускладнення супроводжувався через 7 днів після операції вираженим больовим синдромом, частковою або повною розбіжністю країв рани з оголенням імплантату, гнійно-геморогічними виділеннями, набряком і гіперемією в області перехідної складки, яка була трохи згладжена і інфільтрована, різким болем по обидва боки альвеолярного відростка при пальпації. На нижній щелепі спостерігався симптом Венсана (компресія судинно-нервового пучка). Через 3 місяці після операції спостерігалася

гіперемія слизової оболонки альвеолярного відростка в місці позиціонування імплантату, її інфільтрація при пальпації, оголена пришийкова частина імплантату і його рухливість, серозно-гнійні виділення з патологічної кишені. На рентгенограмі спостерігалася рарефікація кісткової тканини по всій довжині імплантату з обох сторін з деструкцією пришийкової області та ознаками утворення дрібних секвестрів, а також наявність глибоких кишень. Через 6 місяців спостерігалася відторгнення дрібних кісткових секвестрів, після чого зменшувалися болі і набряк, рухливість імплантату і його оголення на одну третину довжини, серозно-гнійні виділення з кишень. На рентгенограмі виявлялася зона деструкції кісткової тканини по всій довжині імплантату, по периферії якої зазначалося її ущільнення, наявність дрібних секвестрів між імплантатом і здоровими кістковими тканинами. Можливо відторгнення кісткової тканини разом з імплантатом.

Результати оцінки ступеня ускладнень після операції дентальної імплантації у пацієнтів з ЦД наведені в таблиці 6.1.

Таблиця 6.1

Ступінь ускладнень після дентальної імплантації у пацієнтів з цукровим діабетом

Група Ступінь ускладнень	Група порівняння n=24	Основна група n=29
легкий	20,20 %	6,10 %
середній	33,01 %	9,20 %
тяжкий	7,10 %	-
без ускладнень	40,69 %	84,70 %

Наведені дані свідчать про те, що в результаті застосування розробленого ЛПК супроводу ортопедичного лікування у пацієнтів основної

групи легкий і середній ступені післяопераційних ускладнень зустрічалися відповідно в 3,3 рази і 3,5 рази рідше, ніж в групі порівняння, що одержувала тільки базову терапію. Тяжка форма ускладнень в основній групі при цьому не спостерігалася, а відсутність ускладнень була в 2 рази більше, ніж в групі порівняння (табл. 6.1).

На початковому етапі лікування стан твердих тканин зубів і тканин пародонта достовірно не відрізнялися в основній групі і в групі порівняння. Оцінка стану твердих тканин зубів пацієнтів з ЦД показала 100% потребу у них в лікуванні карієсу зубів і його ускладнень. Інтенсивність карієсу за індексом КПВз становила 19,4 зуба на одного обстеженого. У структурі КПВ, складова К була 0,57, пломбовані зуби – 3,9, а видалені – 10,3. Коронки в середньому по групі становили 4,66 (табл. 6.2).

Таблиця 6.2

Структура індексу КПВ зубів у пацієнтів 30-55 років з цукровим діабетом 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування

КПВ	К	П	В	Коронки
19,4±2,1	0,57±0,07	3,9±0,4	10,3±1,2	4,66±0,6

У таблиці 6.3 наведені показники стану тканин пародонта і рівня гігієни порожнини рота у пацієнтів основної групи і групи порівняння в процесі ортопедичного лікування. У процесі спостереження через 3, 6 місяців і через 1 рік були відзначені істотні відмінності в основній групі і в групі порівняння зазначених показників.

Видно, що індекс поширеності процесу запалення РМА % в групі порівняння через 1 рік спостереження збільшився на 7,9%, в той час як в основній групі він збільшився лише на 1,5%. Індекс кровоточивості за 1 рік спостережень збільшився в групі порівняння на 0,14, а в основній групі він зменшився на 0,09 (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

**Зміни індексів PMA%, кровотоковості, Silness-Loe і Stallard у пацієнтів
30-55 років з цукровим діабетом 2 типу в процесі ортопедичного
лікування**

Показники		Групи	Група порівняння	Основна група
		1	n=24	n=29
		1	2	3
Вихідний стан	PMA, %		57,80±5,10	58,40±5,00 p>0,05
	Індекс кровотоковості		1,52±0,18	1,60±0,17 p>0,05
	Silness-Loe		1,33±0,15	1,34±0,14 p>0,05
	Stallard		1,46±0,16	1,50±0,17 p>0,05
Через 3 місяці	PMA, %		70,40±6,10	63,90±6,00 p>0,05
	Індекс кровотоковості		1,72±0,20	1,67±0,18 p>0,05
	Silness-Loe		1,91±0,20	1,04±0,10 p<0,05
	Stallard		1,65±0,15	1,23±0,11 p<0,05
Через 6 місяців	PMA, %		64,30±5,70	61,10±6,20 p>0,05
	Індекс кровотоковості		1,69±0,17	1,54±0,18 p>0,05
	Silness-Loe		1,11±0,10	0,75±0,08 p<0,05

Продовження табл. 6.3

1		2	3
Через 6 місяців	Stallard	1,43±0,15	0,72±0,07 p<0,05
Через 1 рік	PMA, %	62,40±5,40	59,30±5,80 p>0,05
	Індекс кровоточивості	1,66±0,15	1,51±0,16 p>0,05
	Silness-Loe	1,15±0,12	0,77±0,07 p<0,05
	Stallard	1,12±0,10	0,76±0,06 p<0,05

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від групи порівняння

Індекс Silness-Loe, що оцінює кількість м'якого зубного нальоту, за 1 рік спостережень в групі порівняння зменшився на 13,6%, а в основній групі він знизився на 42,5%. Індекс Stallard, що визначає площу зубної бляшки, в динаміці спостереження в групі порівняння за 1 рік зменшився на 23,3%, а в основній групі – на 49,4%.

На рисунках 6.1-6.5 наведені приклади результатів рентгенологічної оцінки комплексного ортопедичного лікування пацієнта А. основної групи, який отримував ЛПК, і пацієнтки Б. групи порівняння, що отримувала тільки базову терапію.

Пацієнт А., 1971 р. народження звернувся до ортопедичного відділення одеської обласної клінічної стоматологічної поліклініки в 2014 році зі скаргами на косметичний дефект, неможливість пережовування їжі, рухливість зубів, кровоточивість ясен, неприємний запах з рота (ЦД 2 типу, глюкоза – 10 %).

Анамнез. Вперше пацієнт звернувся до пародонтологічного відділення одеської обласної клінічної стоматологічної поліклініки в 2011 році.

Скарги при зверненні: кровоточивість ясен, неприємний запах з рота, рухливість зубів. Пацієнту було поставлено діагноз генералізований пародонтит (ГП) II ступеня в стадії загострення. Проведено курс консервативної терапії згідно з протоколом. При лабораторному обстеженні виявлено ЦД 2 типу (глюкоза – 18%). Було рекомендовано звернутися до ендокринолога. Пацієнт наступного разу звернувся до пародонтологічного відділення одеської обласної клінічної стоматологічної поліклініки лише в 2014 р.

На рисунку 6.1 представлена рентгенографія зубів пацієнта А. на момент його повторного звернення.

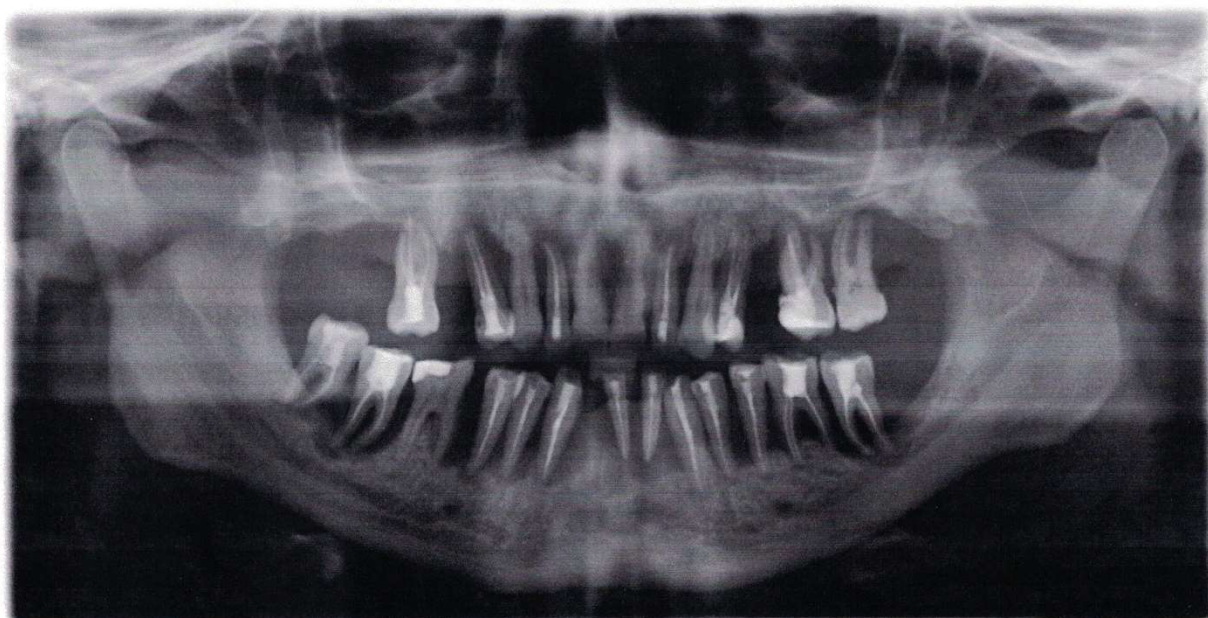


Рис. 6.1. Рентгенографія пацієнта А. на момент звернення

Об'єктивно: $\frac{7\ 5|6}{21}$ зуби були відсутні.

Слизова в області крайового пародонту була набряклою, яскраво гіперемованою. При пальпації відзначалося значне гноєвиділення. Рухливість зубів III ступеня.

При зондуванні визначались глибокі пародонтальні кишені (понад 7-8 мм).

На підставі даних анамнезу клінічного обстеження, даних рентгенографії пацієнту був поставлений діагноз хронічний генералізований

пародонтит III ступеня в стадії загострення, часткова вторинна адентія верхньої і нижньої щелеп.

На підставі цього була рекомендована хірургічна санація порожнини рота (видаленню підлягає більшість зубів), виготовлення повних знімних протезів верхньої і нижньої щелепи. Від запропонованого виду ортопедичної конструкції пацієнт відмовився.

Пацієнт А. наполягав на протезуванні незнімними ортопедичними конструкціями з опорою на дентальні імплантати.

Пацієнт був ознайомлений з протоколом лікування та запропонованим ЛПК з метою корекції метаболічних порушень в кістковій тканині і дав письмову згоду на запропоновану терапію та ортопедичне лікування з використанням дентальних імплантатів.

Після проведення хірургічної санації порожнини рота і призначення ЛПК пацієнт через 1,5 місяці був направлений до хірурга-імплантолога з метою проведення операції дентальної імплантації.

Був проведений огляд, призначені додаткові методи дослідження (панорамна рентгенографія, конусно-променева томографія).

Операція дентальної імплантації була проведена в 2 етапи. 1 етап – установка 10 дентальних імплантатів на верхній щелепі. Через 1 місяць – установка 11 імплантатів на нижню щелепу.

Після проведення операції дентальної імплантації була призначена терапія згідно протоколу в поєднанні з продовженням прийому профілактичного комплексу.

Через 6 місяців були проведені контрольний огляд, контрольна рентгенограма (R-грама) (рис. 6.2). Були встановлені формувачі ясен, після чого пацієнт був направлений на протезування.

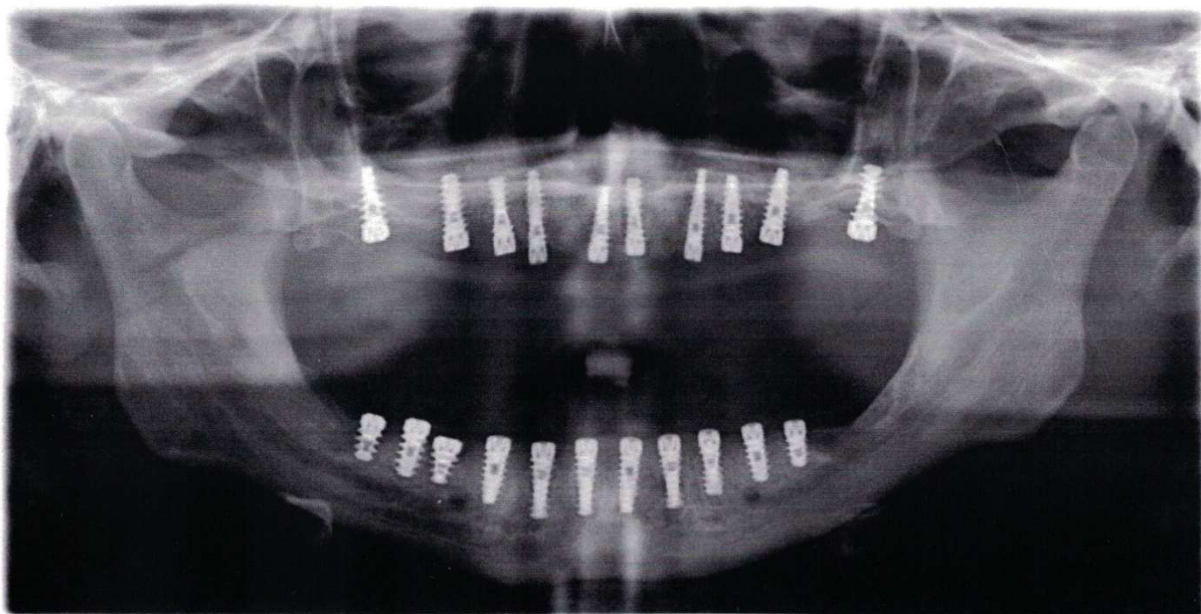


Рис. 6.2. Рентгенографія пацієнта А. перед встановленням формувачів ясен

У січні 2015 р. пацієнтові були виготовлені незнімні ортопедичні конструкції з опорою на дентальні імплантати. Були надані рекомендації з гігієни порожнини рота, було рекомендовано продовження використання ЛПК та диспансерне спостереження.

У 2016 році був проведений контрольний огляд. Пацієнт скарг не пред'являв, функція жування не була порушена. Слизова в області періімплантантних тканин була блідо-рожевого кольору. Також була проведена контрольна R-графія.

У 2017 році був знову проведений контрольний огляд. Пацієнт скарг не пред'являв, функція жування не була порушена. Слизова в області періімплантантних тканин була блідо-рожевого кольору. Була проведена знову контрольна R-графія.

Контрольний огляд у 2018 році показав, що пацієнт скарг не пред'являв, функція жування не була порушена. Слизова в області періімплантантних тканин була блідо-рожевого кольору. Знову була назначена контрольна R-графія.

У 2019 році був проведений останній контрольний огляд. Пацієнт скарг не пред'являв, функція жування не була порушеною. Слизова в області

періімплантантних тканин була блідо-рожевого кольору. Була проведена остання контрольна R-графія (рис. 6.3).

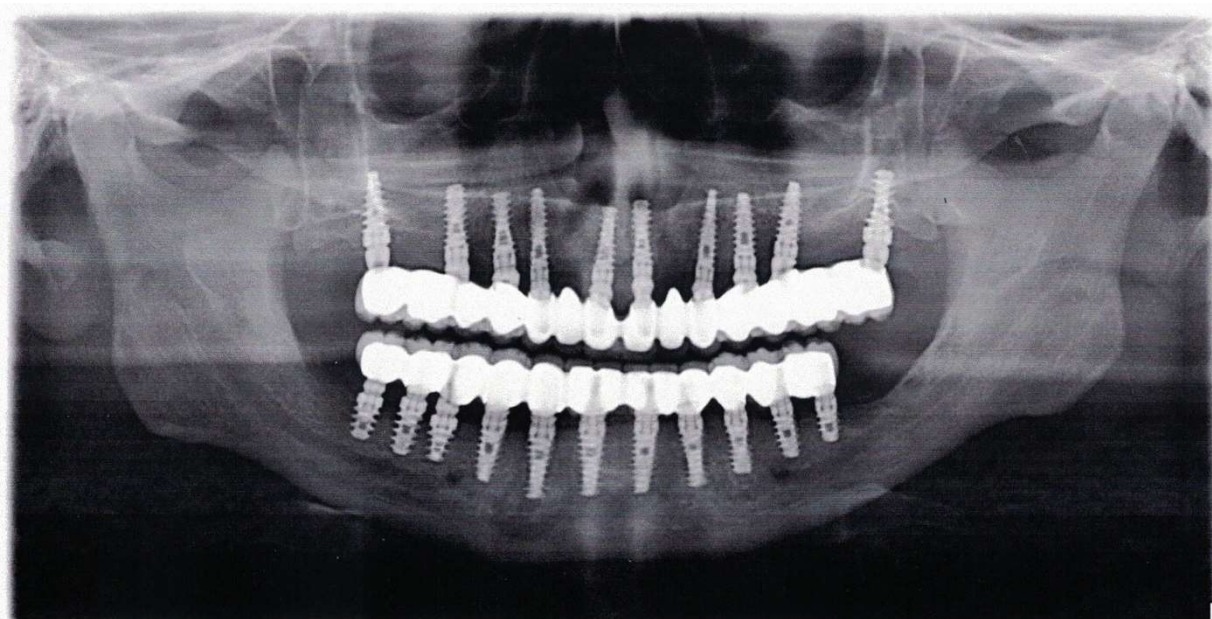


Рис. 6.3. Рентгенографія пацієнта А. через 4 роки після виготовлення незнімних ортопедичних конструкцій з опорою на дентальні імплантати

Таким чином, незважаючи на наявність цукрового діабету та хронічного генералізованого пародонтиту III ступеня в стадії загострення у пацієнта А., завдяки розробленим та застосованим лікувально-профілактичним заходам вдалося досягти досить позитивного результату при ортопедичному лікуванні за допомогою незнімних ортопедичних конструкцій з опорою на дентальні імплантати.

Пацієнтка Б., 1966 року народження звернулася в січні 2016 р. до обласної стоматологічної поліклініки м. Одеси зі скаргами на неможливість користування раніше виготовленими знімними протезами (блювотний рефлекс при їх використанні, сухість порожнини рота) і наполягала на їх заміні незнімними.

Анамнез. Пацієнтці в 2010 р. був діагностований ЦД 2 типу (глюкоза – 9%).

Об'єктивно: були відсутні зуби $\frac{54321|12367}{7654|34567}$

На верхній щелепі бюгельний протез з опорою на замкове з'єднання в області $76|45$ зубів, опорні зуби $67|$ були рухливі (рухливість III ступеня). На нижній щелепі були частково знімні пластинкові протези (ЧЗПП). Слизова в області крайового пародонту $21|123$ зубів гіперемована, набрякла, кровоточить. Рухливість зубів була відсутня.

На підставі огляду та даних рентгенографії був встановлений діагноз – часткова вторинна адентія верхньої і нижньої щелепи, хронічний пародонтит в області $321|12$ зубів.

Рекомендовано до видалення $67|$ зубів.

За наполяганням пацієнтки та її письмовою згодою було вирішено провести дентальну імплантацію в області верхньої і нижньої щелепи з подальшим виготовленням незнімної ортопедичної конструкції. Пацієнтці Б. було рекомендовано проведення ЛПК, але вона відмовилася, мотивуючи це тим, що вона проходить лікування у ендокринолога.

У 2016 році була проведена запланована операція дентальної імплантації на верхній і нижній щелепі, що складалася з двох етапів.

У лютому 2016 року був проведений 1 етап – операція дентальної імплантації на верхній щелепі.

У квітні 2016 року був проведений 2 етап – операція дентальної імплантації на нижній щелепі.

У вересні 2016 року була проведена контрольна R-графія (рис. 6.4).

У грудні 2016 р. було закінчено лікування пацієнтки Б. з незнімними ортопедичними конструкціями. Були надані рекомендації щодо гігієни порожнини рота та рекомендовано диспансерне спостереження.

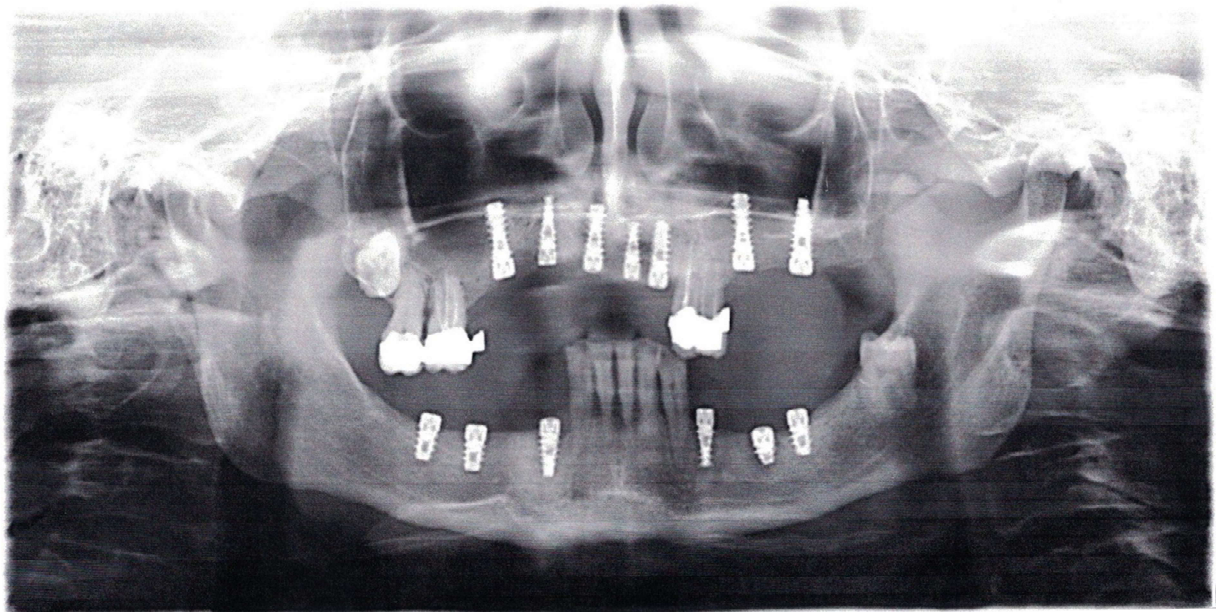


Рис. 6.4. Рентгенографія пацієнтки Б. перед встановленням формувачів ясен

У 2017-2019 р.р. пацієнтка Б. на контрольні щорічні огляди не з'являлася.

У січні 2020 р. пацієнтка звернулася зі скаргами на оголення шийок імплантатів на верхній і нижній щелепах, кровоточивість м'яких тканин, прилеглих до шийок імплантатів, рухливість ортопедичних конструкцій на нижній щелепі з опорою на дентальні імплантати.

Об'єктивно: шийки імплантатів в області верхньої і нижньої щелепи були оголені, ортопедичні конструкції в області бічних ділянок нижньої щелепи були рухливими, слизова навколо периімплантних тканин на верхній і нижній щелепі була набряклою і гіперемованою.

Пацієнтка була направлена на панорамну R-графію (рис. 6.5).

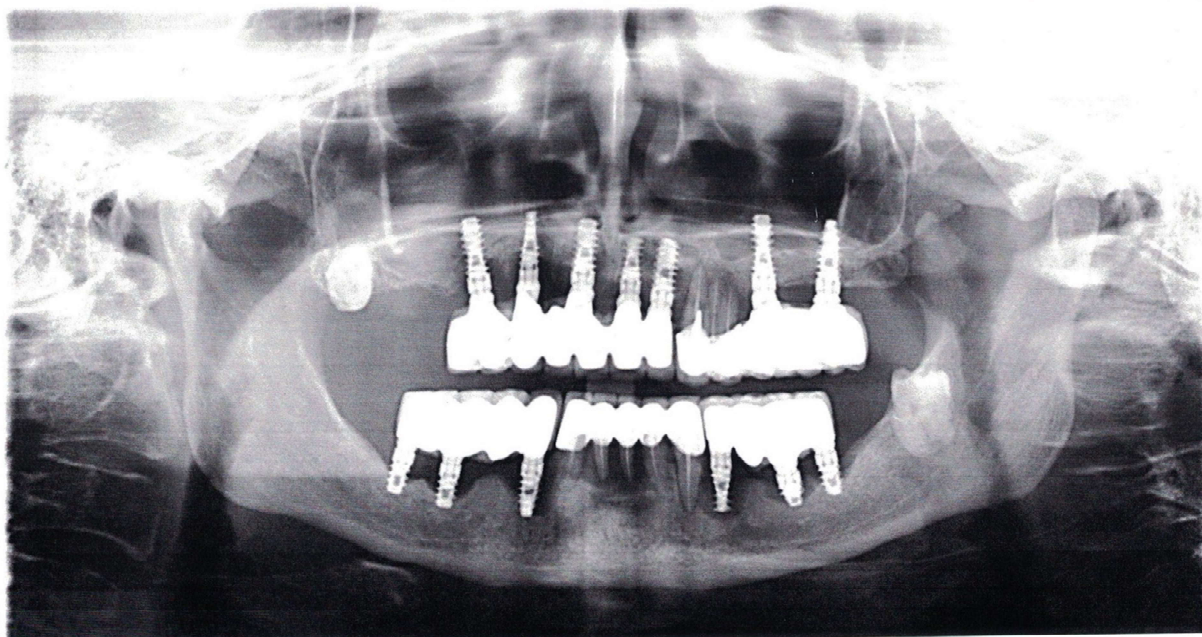


Рис. 6.5. Панорамна рентгенографія пацієнтки Б. на момент звернення через 4 роки після протезування

На панорамній R-грамі була виявлена резорбція кісткової тканини навколо внутрішньокісткової частини імплантатів верхньої і нижньої щелепи (більш виражені на нижній щелепі), на основі чого було прийняте рішення, що ортопедичні конструкції в даному випадку підлягають видаленню.

6.2 Біохімічні показники запалення і антиоксидантного захисту в ротовій рідині пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу в процесі комплексного ортопедичного лікування

Цукровий діабет є важливим фактором ризику серед відносних протипоказань до дентальної імплантації [43, 93, 111], тому що при цьому порушуються багато біохімічних процесів в організмі і, природно, порушується процес нормального ремоделювання кісткової тканини, яке забезпечує довготривалу остеоінтеграцію і стабільність імплантату при ортопедичному лікуванні [13, 112, 308]. Тому при ортопедичному лікуванні пацієнтів з використанням імплантатів на фоні ЦД необхідно використовувати

лікувально-профілактичну терапію, яка регулює вуглеводний обмін, посилює імунітет, має антиоксидантний і остеотропний характер дії [115, 116].

Було проведено вивчення впливу на біохімічні показники ротової рідини лікувально-профілактичних заходів при ортопедичному лікуванні пацієнтів з ЦД 2 типу з використанням імплантатів [128, 129, 131].

В таблиці 6.4 наведені результати оцінки в ротовій рідині активності протеолітичного ферменту еластази в процесі ортопедичного лікування пацієнтів.

Ступінь активності цього ферменту характеризує інтенсивність запалення в порожнині рота. Джерелом еластази в ротовій порожнині є сегментоядерні нейтрофіли. Крім потужного деструктивного дії еластаза активує проколлагеназу і перетворює її в активну форму ферменту – колагеназу, що значно посилює процеси деструкції колагенових фібрил і білково-глікозамінгліканових комплексів тканин ротової порожнини.

Таблиця 6.4

Активність еластази в ротовій рідині пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу на різних етапах ортопедичного лікування, мк-кат/л

Терміни спостереження \ Групи	Група порівняння, n = 24	Основна група, n = 29
1	2	3
Норма – $0,55 \pm 0,06$		
Вихідний стан	$2,69 \pm 0,21$ $p < 0,001$	$3,02 \pm 0,24$ $p < 0,001$ $p_2 > 0,05$
Через 1 місяць терапії	$1,42 \pm 0,11$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,001$	$0,87 \pm 0,07$ $p < 0,005$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Продовження табл. 6.4

1	2	3
Через 3 місяці установки імплантатів	2,15 ± 0,19 p < 0,005 p ₁ > 0,05	0,64 ± 0,08 p > 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
Через 6 місяці установки імплантатів	3,02 ± 0,27 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,51 ± 0,07 p > 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
Через 1 рік установки імплантатів	2,83 ± 0,32 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,70 ± 0,09 p > 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001

Примітка: p – показник достовірності відмінностей відносно норми;
p₁ – показник достовірності відмінностей відносно вихідних показників;
p₂ – показник достовірності відмінностей між основною групою та порівняння.

Аналіз ротової рідини, проведений після лікування за протоколом в групі порівняння або додаткового застосування лікувально-профілактичного комплексу в основній групі, показав істотне зниження цього маркера запалення. При цьому в групі порівняння активність еластази знизилася в 1,9 рази, а в основній групі – в 3,5 рази (табл. 6.4).

Дослідження ротової рідини через 3 місяці після установки імплантатів у пацієнтів з ЦД 2 типу в групі порівняння показали нове збільшення активності еластази до вихідного рівня. Висока активність цього маркера запалення збереглася через 6 місяців і через 1 рік. Наведені результати свідчать про низьку ефективність базової терапії при ЦД 2 типу (табл. 6.4).

Біохімічний аналіз ротової рідини пацієнтів з ЦД 2 типу основної групи, яким після установки імплантатів регулярно призначали ЛПК, виявив стабільне зниження активності еластази. Через 3 місяці цей маркер запалення

знизився в 4,7 рази, відповідаючи нормальним значенням. Низький рівень активності еластази в ротовій рідині пацієнтів основної групи з ЦД 2 типу після імплантації зберігся через 6 і 12 місяців, що говорить про протизапальну ефективність запропонованого ЛПК (табл.6.4).

Іншим маркером запалення прийнято вважати малоновий діальдегід, оскільки патологічні процеси призводять до інтенсифікації ПОЛ, різкого зростання рівня ендогенних перекисів ліпідів і утворення МДА, який виступає в якості фактора, що ушкоджує і порушує структуру мембран. Так, про ступінь інтенсивності ПОЛ в ротовій порожнині оглянутих пацієнтів судили за вмістом МДА в ротовій рідині (табл. 6.5). Аналіз ротової рідини пацієнтів на вихідному етапі дослідження показав високий рівень МДА, а отже, і активні процеси ПОЛ і запалення, в порожнині рота пацієнтів з ЦД 2 типу. Рівень МДА перевищував норму в середньому в 2 рази (табл. 6.5).

Таблиця 6.5

Вміст малонового діальдегіду в ротовій рідині пацієнтів з цукровим діабетом на різних етапах ортопедичного лікування, ммоль/л

Терміни спостереження	Групи	Група порівняння, n = 24	Основна група, n = 29
1		2	3
Норма – 0,16 ± 0,02			
Вихідний стан		0,32±0,03 p < 0,001	0,27±0,03 p < 0,001 p ₂ > 0,05
Через 1 місяць терапії		0,20±0,02 p < 0,001 p ₁ < 0,05	0,15±0,02 p > 0,05 p ₁ < 0,05 p ₂ > 0,05

Продовження табл. 6.5

1	2	3
Через 3 місяці установки імплантатів	0,26±0,03 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,19±0,02 p > 0,05 p ₁ < 0,01 p ₂ = 0,05
Через 6 місяці установки імплантатів	0,35±0,04 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,14±0,01 p > 0,05 p ₁ < 0,01 p ₂ < 0,001
Через 1 рік установки імплантатів	0,29±0,04 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,17±0,02 p > 0,05 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,005

Примітка: p – показник достовірності відмінностей відносно норми;
p₁ – показник достовірності відмінностей відносно вихідного стану;
p₂ – показник достовірності відмінностей між групою порівняння та основною.

Через місяць після проведених лікувально-профілактичних заходів і перед установкою імплантатів виявлено достовірне зниження вмісту МДА в ротовій рідині обох груп, але більш значне – в основній. Через 3 місяці після фіксації імплантатів в ротовій рідині пацієнтів групи порівняння вміст МДА підвищився і відповідав вихідному рівню, що можна пояснити (разом зі збільшенням активності еластази) інтенсифікацією запалення внаслідок хірургічного втручання на фоні ЦД 2 типу. Високі значення МДА зафіксовані в ротовій рідині пацієнтів групи порівняння через 6 і 12 місяців (табл. 6.5).

Призначення лікувально-профілактичного комплексу в основній групі сприяло стабільному зниженню рівня МДА в ротовій рідині пацієнтів до норми протягом усіх термінів спостереження (табл. 6.5). Наведені результати дослідження говорять про антиоксидантну ефективність лікувально-

профілактичного комплексу для пацієнтів з ЦД 2 типу в процесі імплантації.

Підтвердженням антиоксидантної дії запропонованого комплексу препаратів був аналіз ротової рідини на активність каталази, одного з основних антиоксидантних ферментів. З даних таблиці 6.6 видно, що у пацієнтів з ЦД 2 типу на вихідному етапі активність каталази була більш ніж в 2 рази нижчою відносно нормальних значень. Проведення підготовчого лікування перед установкою імплантатів у пацієнтів групи порівняння сприяло збільшенню активності каталази в ротовій рідині пацієнтів в 1,4 рази через 1 місяць. А після додаткового призначення ЛПК пацієнтам основної групи активність антиоксидантного ферменту підвищилася в 1,7 рази (табл. 6.6).

Таблиця 6.6

Активність каталази в ротовій рідині пацієнтів з цукровим діабетом на різних етапах ортопедичного лікування, мкат/л

Терміни спостереження \ Групи	Група порівняння, n = 24	Основна група, n = 29
1	2	3
Норма – $0,21 \pm 0,02$		
Вихідний стан	$0,10 \pm 0,01$ $p < 0,005$	$0,08 \pm 0,01$ $p < 0,001$ $p_2 > 0,05$
Через 1 місяць терапії	$0,14 \pm 0,02$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$	$0,17 \pm 0,02$ $p > 0,5$ $p_1 < 0,01$ $p_2 > 0,05$
Через 3 місяці установки імплантатів	$0,08 \pm 0,01$ $p < 0,005$ $p_1 > 0,05$	$0,15 \pm 0,02$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Продовження табл. 6.6

1	2	3
Через 6 місяці установки імплантатів	0,13 ± 0,02 p < 0,05 p ₁ > 0,05	0,18 ± 0,02 p > 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,05
Через 1 рік установки імплантатів	0,09 ± 0,01 p < 0,005 p ₁ > 0,05	0,24 ± 0,03 p > 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001

Примітка: p – показник достовірності відмінностей відносно норми;
p₁ – показник достовірності відмінностей відносно вихідного стану;
p₂ – показник достовірності відмінностей між групою порівняння та основною.

Аналіз ротової рідини через 3 місяці після фіксації імплантатів показав зниження активності каталази, а отже, і активності антиоксидантного захисту в порожнині рота у пацієнтів групи порівняння. Активність каталази зберігалася низькою і на всіх наступних етапах проведення дослідження – через 6 і 12 місяців (табл. 6.6).

Регулярне призначення лікувально-профілактичних заходів в основній групі пацієнтів з ЦД 2 типу сприяло підтриманню активності антиоксидантного захисту на високому рівні, оскільки активність каталази в ротовій рідині даних пацієнтів зростала впродовж терміну лікування і через 1 рік відповідала значенням норми (табл. 6.6).

Про високу антиоксидантну ефективність застосованого ЛПК свідчать і значення в ротовій рідині індексу АПІ (табл. 6.7).

Процеси утворення активних форм кисню і пероксидації ліпідів контролюються багатоступінчастою антиоксидантною системою і за нормальних умов ці системи знаходяться у фізіологічній рівновазі. Найбільш наочно співвідношення антиоксидантних і перекисних процесів відображає

розрахунковий індекс АПІ. Результати цього показника наведені в таблиці 6.7.

Таблиця 6.7

Антиоксидантно-прооксидантний індекс в ротовій рідині пацієнтів з цукровим діабетом на різних етапах ортопедичного лікування

Терміни спостереження	Групи	Група порівняння, n = 24	Основна група, n = 29
Норма – $13,1 \pm 1,5$			
Вихідний стан		$3,13 \pm 0,42$ $p < 0,001$	$2,96 \pm 0,34$ $p < 0,001$ $p_2 > 0,05$
Через 1 місяць терапії		$7,04 \pm 0,82$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$	$11,33 \pm 1,26$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$
Через 3 місяці установки імплантатів		$3,08 \pm 0,21$ $p < 0,001$ $p_1 > 0,05$	$7,89 \pm 0,62$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Через 6 місяці установки імплантатів		$3,71 \pm 0,34$ $p < 0,001$ $p_1 > 0,05$	$12,85 \pm 1,09$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Через 1 рік установки імплантатів		$3,10 \pm 0,27$ $p < 0,001$ $p_1 > 0,05$	$14,12 \pm 1,53$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примітка: p – показник достовірності відмінностей відносно норми;
 p_1 – показник достовірності відмінностей відносно вихідного стану;
 p_2 – показник достовірності відмінностей між групою порівняння та основною.

Видно, що індекс АПІ в ротовій рідині пацієнтів з ЦД 2 типу, направлених на ортопедичне лікування, на початковому етапі дослідження був знижений більш ніж в 4 рази порівняно із нормою. Це свідчить про істотне переважання процесів пероксидації ліпідів над активністю антиоксидантної системи в порожнині рота пацієнтів. Через 1 місяць після проведення базової терапії в групі порівняння і базової терапії з ЛПК в основній групі перед установкою імплантів аналіз ротової рідини у пацієнтів з ЦД виявив підвищення індексу АПІ в групі порівняння в 2,2 рази, а в основній – в 3,8 рази. Через 3 місяці після фіксації імплантів в ротовій рідині пацієнтів групи порівняння індекс АПІ знову зменшився до вихідного рівня. Низькі значення індексу АПІ зареєстровані в ротовій рідині пацієнтів групи порівняння також через 6 і 12 місяців (табл. 6.7).

Призначення лікувально-профілактичних препаратів пацієнтам основної групи сприяло стабільному підвищенню індексу АПІ в порожнині рота протягом усіх термінів спостереження. Значення цього показника відповідали нормі (табл. 6.7).

Наведені результати дослідження підтверджують антиоксидантну ефективність запропонованого лікувально-профілактичного комплексу для хворих на ЦД 2 типу в процесі ортопедичного лікування.

Активність уреазі в ротовій рідині може побічно відбивати ступінь обсіменіння порожнини рота умовно-патогенної мікробіотою, оскільки цей фермент секретується *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* та ін. Умовно-патогенними бактеріями.

У таблиці 6.8 наведені результати дослідження активності уреазі в ротовій рідині хворих на ЦД 2 типу в процесі ортопедичного лікування. На початковому етапі рівень цього маркера мікробної контамінації перевищував нормальні значення в 2,8 рази. Ця інформація обумовлювала необхідність проведення ефективних антимікробних заходів.

Таблиця 6.8

Зміни активності уреазу в ротовій рідині пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу на різних етапах ортопедичного лікування, мк-кат/л

Терміни спостереження \ Групи	Група порівняння, n = 24	Основна група, n = 29
Норма – 0,065±0,009		
Вихідний стан	0,193±0,018 p < 0,001	0,178±0,019 p < 0,001 p ₂ > 0,05
Через 1 місяць терапії	0,096±0,011 p < 0,05 p ₁ < 0,005	0,074±0,09 p > 0,05 p ₁ < 0,005 p ₂ > 0,05
Через 3 місяці установки імплантатів	0,204±0,019 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,092±0,011 p < 0,05 p ₁ < 0,005 p ₂ < 0,005
Через 6 місяці установки імплантатів	0,185±0,021 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,073±0,009 p > 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
Через 1 рік установки імплантатів	0,169±0,022 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,084±0,010 p > 0,05 p ₁ < 0,005 p ₂ < 0,001

Примітка: p – показник достовірності відмінностей відносно норми;
 p₁ – показник достовірності відмінностей відносно вихідного стану;
 p₂ – показник достовірності відмінностей між групою порівняння та основною.

Аналіз ротової рідини спостережуваних пацієнтів через 1 місяць профілактичних заходів (перед фіксацією імплантатів) показав достовірне зниження активності уреаз в обох група. Так в ротовій рідині групи порівняння цей показник зменшився в 2,0 рази, а в основній групі – в 2,5 рази в порівнянні з вихідним рівнем. Отримані дані говорять про здатність комплексу лікувально-профілактичних препаратів знижувати бактеріальну контамінацію порожнини рота пацієнтів з ЦД 2 типу (табл. 6.8).

Дослідження ротової рідини спостережуваних пацієнтів через 3 місяці після установки імплантатів встановило підвищення активності уреаз в групі порівняння до вихідного рівня. Причому висока активність уреаз в ротовій рідині пацієнтів групи порівняння з ЦД 2 типу після установки імплантатів збереглася через 6 і 12 місяців (табл. 6.8).

У ротовій рідині основної групи, яка отримувала комплекс препаратів, активність уреаз через 3 місяці після фіксації імплантатів була достовірно нижчою по відношенню до вихідного рівня. Дослідження через 6 і 12 місяців показало низький рівень активності уреаз в ротовій рідині основної групи, яка досягла значень, що відповідають нормі. Отримані результати говорять про антимікробну ефективність запропонованого лікувально-профілактичного комплексу у пацієнтів з ЦД 2 типу в процесі лікування.

Стійке зниження активності уреаз в ротовій рідині хворих на ЦД 2 типу після імплантації під впливом комплексу препаратів, можливо, пов'язано зі стимуляцією неспецифічного антимікробного захисту ротової порожнини, про що свідчать результати дослідження активності лізоциму. Цьому ферменту відводять найважливішу роль в системі неспецифічного антимікробного захисту порожнини рота, оскільки лізоцим руйнує бактерії і віруси, одночасно активує імуноглобуліни і фагоцитуючі лейкоцити. Тому зниження активності лізоциму в ротовій порожнині призводить до активного росту і розмноження умовно-патогенної і патогенної мікробіоти.

Результати аналізу активності лізоциму в ротовій рідині пацієнтів з ЦД 2 типу представлені в таблиці 6.9.

У початковому стані спостерігалася низька активність цього антимікробного фактора в ротовій рідині пацієнтів обох груп. В середньому активність лізоциму була знижена більш ніж в 2 рази в порівнянні з нормою. Цими результатами можна пояснити високу вихідну активність уреазі в ротовій рідині хворих на ЦД 2 типу (табл. 6.9).

Таблиця 6.9

Зміни активності лізоциму в ротовій рідині пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу на різних етапах ортопедичного лікування, од/л

Терміни спостереження \ Групи	Група порівняння, n = 24	Основна група, n = 29
1	2	3
Норма	142 ± 17	
Вихідний стан	59 ± 8 p < 0,005	64 ± 7 p < 0,005 p ₂ > 0,05
Через 1 місяць терапії	83 ± 7 p < 0,01 p ₁ < 0,05	105 ± 14 p > 0,05 p ₁ < 0,05 p ₂ > 0,05
Через 3 місяці установки імплантатів	62 ± 5 p < 0,01 p ₁ > 0,05	102 ± 9 p = 0,05 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,01
Через 6 місяці установки імплантатів	73 ± 9 p < 0,01 p ₁ > 0,05	118 ± 13 p > 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,005

Продовження табл. 6.9

1	2	3
Через 1 рік установки імплантатів	58 ± 7 $p < 0,005$ $p_1 > 0,05$	127 ± 14 $p > 0,05$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примітка: p – показник достовірності відмінностей відносно норми;
 p₁ – показник достовірності відмінностей відносно вихідного стану;
 p₂ – показник достовірності відмінностей між групою порівняння та основною.

Активність лізоциму дещо підвищилася в ротовій рідині пацієнтів групи порівняння тільки через місяць після проведення базової терапії. Протягом усіх наступних термінів дослідження рівень активності цього антимікробного фактора зберігався низьким і відповідав початковим значенням.

При цьому в ротовій рідині хворих на ЦД 2 типу, які додатково отримували ЛПК, досліджуваний показник через місяць збільшився в 1,6 рази. Через 3 місяці після установки імплантатів активність лізоциму в ротовій рідині цієї групи була достовірно вище вихідного рівня і значень в групі порівняння (табл. 6.9).

На наступному етапі дослідження через 6 місяців після фіксації імплантатів спостерігалася також висока активність лізоциму в ротовій рідині пацієнтів основної групи, що одержувала регулярно лікувально-профілактичний комплекс препаратів. При цьому найвищі значення активності лізоциму зареєстровані в цій групі через 12 місяців після установки імплантатів (табл. 6.9). Представлені дані демонструють здатність препаратів комплексу ефективно стимулювати неспецифічний антимікробний захист порожнини рота на фоні ЦД 2 типу та фіксації імплантатів.

Найбільш наочно стан системи «антимікробний захист – бактеріальна контамінація» в порожнині рота відображає розрахунковий індекс ступінь дисбіозу. Відповідні дані наведені в таблиці 6.10.

Таблиця 6.10

Зміни ступеня дисбіозу в ротовій рідині пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу на різних етапах ортопедичного лікування

Терміни спостереження \ Групи	Група порівняння, n = 24	Основна група, n = 29
Норма	1,0±0,001	
Вихідний стан	7,16 ± 0,84 p < 0,001	6,09 ± 0,75 p < 0,001 p ₂ > 0,05
Через 1 місяць терапії	2,55 ± 0,31 p < 0,01 p ₁ < 0,005	1,54 ± 0,18 p < 0,005 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,01
Через 3 місяці установки імплантатів	7,14 ± 0,69 p < 0,001 p ₁ > 0,05	1,97 ± 0,23 p < 0,005 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
Через 6 місяці установки імплантатів	5,58 ± 0,67 p < 0,001 p ₁ > 0,05	1,35 ± 0,09 p < 0,005 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
Через 1 рік установки імплантатів	6,34 ± 0,80 p < 0,001 p ₁ > 0,05	1,45 ± 0,18 p < 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001

Примітка: p – показник достовірності відмінностей відносно норми;
p₁ – показник достовірності відмінностей відносно вихідного стану;
p₂ – показник достовірності відмінностей між групою порівняння та основною.

Як видно з представлених результатів, ступінь дисбіозу у хворих на ЦД 2 типу на початковому етапі дослідження була в 6-7 разів вище норми. Через місяць проведення лікувально-профілактичних заходів і перед установкою імплантатів ступінь дисбіозу в порожнині рота пацієнтів обох груп достовірно зменшилася: в 2,8 рази в групі порівняння і більш значно в основній – в 3,9 рази (табл. 6.10).

Через 3 місяці після фіксації імплантатів в порожнині рота пацієнтів групи порівняння ступінь дисбіозу знову збільшилася до вихідного рівня, на якому зберігалася через 6 і 12 місяців (табл. 6.10).

В основній групі, якій регулярно призначали комплекс лікувально-профілактичних препаратів, ступінь дисбіозу через 3, 6 і 12 місяців була істотно нижче вихідного рівня (в середньому, в 4 рази). Це підтверджує високу ефективність комплексу з нормалізації мікробіоценозу у хворих на ЦД 2 типу і після імплантації (табл. 6.10).

У пацієнтів з ЦД 2 типу в ротовій рідині був відзначений підвищений в порівнянні з нормою рівень тригліцеридів (майже в 3 рази), що є наслідком порушення жирового обміну в організмі, характерного для ЦД 2 типу (табл. 6.11).

У ротовій рідині пацієнтів групи порівняння, що одержувала базове лікування, вміст тригліцеридів не мав істотних змін протягом усіх термінів дослідження. При цьому додаткове призначення регулярних курсів лікувально-профілактичного комплексу основній групі через 6 місяців після установки імплантатів сприяло достовірному зниженню рівня тригліцеридів як по відношенню до початкових значень, так і по відношенню до показника в групі порівняння. При аналізі ротової рідини через 12 місяців зареєстровано стійке зниження рівня тригліцеридів в основній групі, практично до нормальних значень (табл. 6.11).

Таблиця 6.11

Зміни рівня тригліцеридів в ротовій рідині пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу на різних етапах комплексного ортопедичного лікування, ммоль/л

Терміни спостереження \ Групи	Група порівняння, n = 24	Основна група, n = 29
Норма	0,082 ± 0,005	
Вихідний стан	0,21 ± 0,02 p < 0,001	0,26 ± 0,03 p < 0,001 p ₂ > 0,05
Через 1 місяць терапії	0,24 ± 0,02 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,20 ± 0,02 p < 0,005 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05
Через 3 місяці установки імплантатів	0,18 ± 0,01 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,22 ± 0,02 p < 0,005 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05
Через 6 місяці установки імплантатів	0,21 ± 0,02 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,14 ± 0,02 p = 0,05 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,05
Через 1 рік установки імплантатів	0,19 ± 0,02 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,11 ± 0,02 p > 0,05 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,05

Примітка: p – показник достовірності відмінностей відносно норми;
p₁ – показник достовірності відмінностей відносно вихідного стану;
p₂ – показник достовірності відмінностей між групою порівняння та основною.

Вміст холестерину в ротовій рідині спостережуваних пацієнтів з ЦД 2 типу на вихідному етапі перевищував нормальний рівень більш ніж в 2 рази, що також підтверджує загальне порушення обміну речовин, зокрема холестерину, у пацієнтів з ЦД 2 типу (табл. 6.12).

Таблиця 6.12

Зміни вмісту холестерину в ротовій рідині пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу на різних етапах комплексного ортопедичного лікування, ммоль/л

Терміни спостереження \ Групи	Група порівняння, n = 24	Основна група, n = 29
1	2	3
Норма	0,12 ± 0,01	
Вихідний стан	0,27 ± 0,03 p < 0,001	0,24 ± 0,02 p < 0,005 p ₂ > 0,05
Через 1 місяць терапії	0,24 ± 0,03 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,28 ± 0,03 p < 0,005 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05
Через 3 місяці установки імплантатів	0,21 ± 0,02 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,20 ± 0,02 p < 0,005 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05
Через 6 місяці установки імплантатів	0,25 ± 0,02 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,15 ± 0,02 p > 0,05 p ₁ < 0,01 p ₂ < 0,05

Продовження табл. 6.12

1	2	3
Через 1 рік установки імплантатів	$0,31 \pm 0,04$ $p < 0,001$ $p_1 > 0,05$	$0,17 \pm 0,02$ $p = 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примітка: p – показник достовірності відмінностей відносно норми;
 p₁ – показник достовірності відмінностей відносно вихідного стану;
 p₂ – показник достовірності відмінностей між групою порівняння та основною.

У ротовій рідині пацієнтів групи порівняння, яка отримувала тільки базову терапію, показник холестерину на всіх етапах лікування і проведення біохімічного аналізу практично не змінився і зберігався на достовірно високому рівні, в 1,8-2,6 рази, перевищуючи нормальні значення. На відміну від цього в ротовій рідині пацієнтів основної групи, яка отримувала розроблений лікувально-профілактичний комплекс в процесі лікування і фіксації імплантатів, достовірне зниження рівня холестерину зареєстровано через 6 місяців лікування і збереглося на такому рівні через 1 рік. Показник холестерину в ротовій рідині пацієнтів основної групи на заключних етапах спостереження все ж дещо перевищував значення норми (табл. 6.12).

Одним з основних ознак ЦД є гіперглікемія, що впливає на рівень глюкози в ротовій рідині спостережуваних пацієнтів. Як видно з таблиці 6.13, вміст глюкози в ротовій рідині хворих на ЦД 2 типу на вихідному етапі в 5,5 рази перевищував нормальний рівень. Високі концентрації глюкози в ротовій рідині чинять негативний вплив на тканини порожнини рота, ступінь дисбіозу і несприятливо можуть впливати на результат ортопедичного лікування з використанням імплантатів [14].

Біохімічний аналіз ротової рідини пацієнтів показав, що в групі порівняння вміст глюкози на всіх етапах лікування практично не змінювався і залишався на високому рівні (табл. 6.13).

Таблиця 6.13

Зміни вмісту глюкози в ротовій рідині пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу на різних етапах комплексного ортопедичного лікування, ммоль/л

Терміни спостереження	Групи Група порівняння, n = 24	Основна група, n = 29
Норма	0,21 ± 0,02	
Вихідний стан	1,27 ± 0,15 p < 0,001	1,04 ± 0,11 p < 0,001 p ₂ > 0,05
Через 1 місяць терапії	1,48 ± 0,16 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,86 ± 0,10 p < 0,005 p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,005
Через 3 місяці установки імплантатів	1,15 ± 0,12 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,61 ± 0,05 p < 0,01 p ₁ < 0,01 p ₂ < 0,005
Через 6 місяці установки імплантатів	1,49 ± 0,23 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,39 ± 0,05 p = 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
Через 1 рік установки імплантатів	1,33 ± 0,18 p < 0,001 p ₁ > 0,05	0,43 ± 0,06 p = 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001

Примітка: p – показник достовірності відмінностей відносно норми;
p₁ – показник достовірності відмінностей відносно вихідного стану;
p₂ – показник достовірності відмінностей між групою порівняння та основною.

У ротовій рідині пацієнтів основної групи, які отримували ЛПК, достовірне зниження рівня глюкози відзначено через 3 місяці після фіксації імплантатів. Більш значне зменшення цього показника (в 2,7 рази) встановлено через 6 місяців після установки імплантатів.

На заключному етапі дослідження (через 1 рік) рівень глюкози в ротовій рідині основної групи в 2,4 рази був нижче вихідних значень і в 3,1 рази менше відповідного рівня в групі порівняння, хоча і перевищував в 2 рази показники норми (табл. 6.13).

6.3 Біофізичні показники тканин пародонта, якості кістки і жирової маси у пацієнтів з цукровим діабетом в процесі комплексного ортопедичного лікування

Цукровий діабет може мати істотний вплив на більшість біофізичних і біохімічних процесів в організмі, які негативно впливають, в тому числі, і на процес ортопедичного лікування з використанням імплантатів. Запально-дистрофічні зміни в пародонті знаходяться в прямій залежності від таких факторів, як порушення жирового і вуглеводного обміну, судинних порушень, які супроводжують ЦД, що вимагає розробки та проведення відповідних лікувально-профілактичних заходів супроводу ортопедичного лікування в цьому випадку [93, 112, 308, 357].

В даному дослідженні було проведено вивчення стану тканин пародонта і його мікрокапілярного русла у хворих на ЦД 2 типу в процесі комплексного ортопедичного лікування з використанням імплантатів.

Існуюча для оцінки запальних процесів в тканинах пародонта і слизової оболонки порожнини рота проба Шиллера-Писарева (Ш-П) заснована на реакції фарбування глікогену. За ступенем фарбування розрізняють негативну пробу (солом'яно-жовте забарвлення), слабкопозитивну (світло-коричневе) і позитивну (темно-буре) [26, 170] Недоліком вказаного тесту є занижена його

інформативність, обумовлена суб'єктивністю. При цьому аналіз динаміки зміни запальних процесів був ускладнений через відсутність кількісного показника, що особливо важливо при тривалому спостереженні, а також проведенні планово-профілактичних заходів.

Використаний нами метод [103] заснований на спектроколориметричній оцінці слизової пародонту з використанням розчину проби Ш-П, що дозволяє розділити забарвлення слизової пародонта, пов'язаної з реакцією йоду з глікогеном, що дає темно-буре забарвлення і зміщує основний максимум коефіцієнта відбиття світла в область довжин хвиль 660 нм, і забарвлення ясен з самим йодним розчином, пов'язане з високою проникністю епітелію (максимум – 460 нм). Цей метод досліджень і діагностики слизової порожнини рота дозволяє досить чітко розділити зазначені два механізми її фарбування і отримати кількісні колірні характеристики, пов'язані як з проникністю сполучної тканини пародонту, так і наявністю в ній глікогену.

У пацієнтів з ЦД 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування, спостерігалось досить сильне забарвлення ясен розчином Шиллера-Писарева (Ш-П), як в короткохвильовій (460 нм), так і в довгохвильовій (660 нм) області видимого діапазону довжин хвиль, що свідчило відповідно про низьку ефективність функціонування захисно-бар'єрної системи гіалуронова кислота - гіалуронідаза і наявності глікогену, що супроводжує запальні процеси в тканинах пародонта (табл. 6.14).

Наведені результати свідчать про те, що під дією лікувально-профілактичних заходів фарбування ясна розчином Ш-П у пацієнтів основної групи через півроку зменшилася в області довжин хвиль 460 нм на 22%, що характеризує зменшення проникності слизової ясна для барвника. В області 660 нм зменшення профарбовування ясен склало 25%, що характеризує зменшення концентрації глікогену в яснах і, отже, зменшення ступеня запального процесу в ній. Профарбовування ясен розчином Ш-П в області довжин хвиль 460 нм і 660 нм у пацієнтів основної групи продовжувало зменшуватися і через 1 рік спостережень. У групі порівняння подібних змін в

фарбуванні ясен розчином Ш-П на різних етапах ортопедичного лікування практично не спостерігалось (табл. 6.14).

Таблиця 6.14

Коефіцієнт відбиття світла слизової ясен після фарбування розчином Шиллера-Писарєва у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу в процесі ортопедичного лікування, %

Довжина хвилі \ Групи	Група порівняння n=22	Основна група n=25
Вихідний стан		
460 нм	59±4	57±4 p>0,05
660 нм	63±4	67±5 p>0,05
Через 6 місяців		
460 нм	52±6	70±6 p<0,05
660 нм	60±6	84±5 p<0,05
Через 1 рік		
460 нм	53±6	76±6 p<0,05
660 нм	63±5	87±7 p<0,05

p – показник достовірності відмінностей від групи порівняння.

Під впливом механічного навантаження при жуванні в тканинах пародонта виникає функціональна гіперемія, що забезпечує ергономіку посиленої роботи клітин. Ця гіперемія по тривалості і величині залежить від функціонального стану судин пародонта, величини і тривалості навантаження [80].

Ряд авторів вважає доведеним той факт, що функціональна гіперемія в пародонті відповідає метаболічній теорії, згідно з якою при навантаженні на тканину або орган зростає концентрація метаболітів, в основному гістаміну і гістаміноподібних речовин, які забезпечують розширення мікросудин. При цьому метаболіти повинні викликати, дратуючи тканинні рецептори, збудження вазомоторного центру, що забезпечує компенсаторну констрикцію великих судин. Це ще більше збільшує кровонаповнення мікроциркуляторного русла. Підвищена концентрація виникання вазоактивних метаболітів зберігається до тих пір, поки зберігається «сигнал-навантаження», тобто при зникненні необхідності підвищених енергетичних затрат клітин тканин кровонаповнення мікросудин має зменшуватися. Виникнення і зникнення зазначеної функціональної гіперемії тканин пародонта при ЖН є сумарним результатом стану клітин, їх здатності реагувати на зовнішні чинники, стану капілярів і тонуусу стінок судин, адекватної вазомоторної реакції.

У нашому дослідженні в якості ЖН використовувалася жувальна гумка «Orbit» без цукру протягом 10 хвилин. Дослідження включали оцінку спектроколориметричним методом функціональної гіперемії тканин пародонта, що виникає під дією ЖН. При цьому визначався у видимій області спектра коефіцієнт відбиття світла слизової ясен з розрахунком її колірних параметрів. У запропонованому методі функціональна гіперемія і її зняття оцінювалися за зміною колірних параметрів ясен, що визначаються кровонаповненням її обмінних капілярів [104].

Спектр зелено-блакитної області видимого світла характеризує наповнення (гіперемію) венозної капілярної системи ясен, так як гемоглобін у відновленій формі поглинає ці довжини хвиль менше, ніж оксигемоглобін, а в червоно-помаранчевої – наповнення артеріальної системи (оксигемоглобін), включаючи обмінні капіляри [149]. При цьому збільшення колірної яскравості у відповідних областях довжин хвиль (збільшення коефіцієнта відображення)

характеризує зменшення застійних явищ у відповідних кровоносних системах і навпаки.

Результати досліджень, проведених в початковому стані, показали, що у більшості пацієнтів з ЦД 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування з використанням імплантатів, спостерігалось під дією регламентованого ЖН спазмування капілярів ясен, тобто зменшення в них кровотоку і, як наслідок, зменшення її колірних координат (x, y, z) (табл. 6.15).

Таблиця 6.15

Кольорові координати x, y, z ясна до і після фізіологічному жувального навантаження у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу в процесі ортопедичного лікування, $M \pm m$

Колірні координати		Групи	Група порівняння n=22	Основна група n=25
		1	2	3
Вихідний стан				
До ЖН	x		16,5±1,2	16,9±0,8 p>0,05
	y		15,4±0,9	15,6±0,7 p>0,05
	z		15,7±1,0	15,9±0,7 p>0,05
Після ЖН	x		10,5±0,7	11,0±0,8 p>0,05
	y		9,1±0,7	9,3±0,7 p>0,05
	z		8,1±0,8	8,2±0,7 p>0,05

Продовження табл. 6.15

1	2	3	
Через 6 місяців			
До ЖН	x	16,2±1,0	16,4±0,9 p>0,05
	y	15,0±1,1	15,2±0,8 p>0,05
	z	15,4±0,9	14,7±0,7 p>0,05
После ЖН	x	11,1±0,8	16,2±0,9 p<0,001
	y	9,0±0,8	14,1±0,7 p<0,001
	z	8,1±0,8	14,0±0,7 p<0,001
Через 1 рік			
До ЖН	x	17,1±1,0	15,9±0,9 p>0,05
	y	16,0±0,9	15,1±1,0 p>0,05
	z	15,8±1,0	14,5±1,0 p>0,05
После ЖН	x	11,5±0,9	16,3±0,8 p<0,001
	y	9,7±0,9	15,3±0,9 p<0,001
	z	8,4±0,9	14,6±0,7 p<0,001

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від групи порівняння

Проведена через 6 місяців оцінка усереднених по групі колірних координат ясен у пацієнтів основної групи з ЦД 2 типу до і після регламентованого фізіологічного ЖН свідчать про те, що реакція на ЖН мікрокапілярів в результаті проведення лікувально-профілактичних заходів змінилася. При цьому при ЖН у пацієнтів практично зникло спазмування капілярів і спостерігалось збільшення кровотоку в них, супроводжуване збільшенням колірних координат ясен, що представляло собою вже нормальну фізіологічну реакцію. Подібна позитивна реакція капілярів на ЖН в основній групі зберігалася і через рік. У групі порівняння подібного поліпшення функціонального стану мікрокапілярного русла протягом року не спостерігалось.

Порушення, які є складовими цукрового діабету, лежать в основі механізму розвитку багатьох патологічних процесів в організмі. Органи і тканини порожнини рота, зокрема пародонт, також залучаються до патологічного процесу при цьому. Запально-дистрофічні зміни в пародонті знаходяться в прямій залежності від таких факторів, як порушення жирового і вуглеводного обміну, судинних порушень, що є одними з складових ЦД, що призводять до порушення та кісткового метаболізму [93, 112, 308, 357]. Визначення основних показників жирової маси, а також маркерів кісткового метаболізму в організмі пацієнтів з ЦД 2 типу дозволяє оцінити ефективність лікувально-профілактичного комплексу супроводу процесу ортопедичного лікування пацієнтів з використанням імплантатів [95].

В даному дослідженні визначалися основні показники жирової маси тіла і денситометричні показники якості кістки у пацієнтів з ЦД 2 типу в процесі ортопедичного лікування.

Проведені дослідження показали, що показники жирового обміну у пацієнтів з ЦД 2 типу основної групи, що одержувала ЛПК, достовірно змінювалися відносно групи порівняння в процесі ортопедичного лікування. У таблиці 6.16 наведені дані усередненого відсоткового відхилення кожного показника від норми, яка розраховувалася програмно для кожного

конкретного пацієнта за середньостатистичними показниками з урахуванням віку, ваги, зросту і питомої основної обміну [94].

При цьому у зв'язку з обмеженою кількістю обстежуваних, для зменшення похибки результатів відбиралися пацієнти з близькими відхиленнями показника від норми у кожного.

Таблиця 6.16

Відхилення від норми показників жирового обміну у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу в процесі ортопедичного лікування, Δ %

Терміни спостереження Показники	Вихідний стан		Через 1 рік спостереження	
	Група порівняння, n=16	Основна група, n=18	Група порівняння, n=16	Основна група, n=18
Індекс маси тіла, кг/м ²	35±3	34±3 p>0,05	38±3	29±3 p<0,05
Жирова маса тіла, кг	147±5	145±5 p>0,05	153±5	133±5 p<0,05
Індекс жирової маси тіла, кг/м ²	130±5	129±5 p>0,05	132±4	122±3 p=0,05
Відсоток жирової маси, %	63±2	62±2 p>0,05	69±2	57±2 p<0,01
Рівень вісцерального жиру, ум.од.	13±1	14±1 p>0,05	14±1	10±1 p<0,05

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від групи порівняння;

Рівень вісцерального жиру: норма - 1-9, високий - 10-14, дуже високий - 15-30 [94].

Показник індексу маси тіла являє собою співвідношення ваги пацієнта і його росту. У початковому стані у пацієнтів, спрямованих на ортопедичне лікування, з діагнозом ЦД 2 типу індекс маси тіла перевищував норму. Через 1 рік спостережень в групі порівняння цей показник практично не змінився, в той час як в основній групі спостерігалось зниження перевищення норми на

15% (табл. 6.16). Високі значення індексу маси тіла зазвичай пов'язані з підвищеним ризиком різних супутніх патологій.

Показник жирової маси тіла дозволяє кількісно оцінити надлишок або нестачу жирової маси у пацієнтів. Надлишок жирової маси часто призводить до порушення обміну речовин, цукрового діабету, артеріальної гіпертонії, порушення роботи різних залоз внутрішньої секреції в організмі. Перевищення жирової маси у пацієнтів з ЦД 2 типу відносно норми в групі порівняння за рік спостереження збільшилося в середньому по групі на 4%. В основній групі, що отримувала ЛПК, його перевищення норми знизилося в середньому на 9%.

Індекс жирової маси тіла, що є відношенням жирової маси тіла до площі тіла, дозволяє оцінити ризик виникнення цукрового діабету і його розвиток. Перевищення норми індексу жирової маси тіла в середньому по основній групі пацієнтів за рік спостережень знизилося на 6%, а в групі порівняння воно збільшилося на 1%.

Відсоток жирової маси дозволяє діагностувати нестачу або надлишок жировідкладення в організмі. Відсоток жирової маси використовується для діагностики абдомінального ожиріння (вісцеральний жир) і оцінки ризику розвитку метаболічних порушень [380]. При різних метаболічних порушеннях, включаючи ЦД, відсоток жирової маси перевищує норму. При значному перевищенні норми жирової маси ризик розвитку ЦД вважається високим. У всіх пацієнтів з діагнозом ЦД 2 типу, спрямованих на дентальну імплантацію, відсотковий вміст жиру в середньому перевищував норму. В основній групі, що отримувала ЛПК, він зменшився за 1 рік в середньому на 9%, а в групі порівняння збільшився на 9% (табл. 6.16).

Відомо, що вісцеральний жир розташовується навколо життєво важливих органів таких як печінка, нирки, шлунок. При його надлишку в організмі він потрапляє в кров і призводить до збільшення вмісту холестерину, атеросклерозу, збільшення ліпопротеїдів низької і дуже низької щільності, закупорювання судин, збою гормонального фону і до різних порушень

метаболических реакцій, в тому числі в порожнині рота. Оцінка вмісту вісцерального жиру, що проводиться за виміром електричного імпедансу з урахуванням еквівалентної електричної схеми паралельного з'єднання вісцерального і підшкірного жиру, показала перевищення норми абдомінального ожиріння у більшості пацієнтів з ЦД 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування. Застосування розробленого ЛПК призвело в середньому по групі за період лікування до певного зниження рівня вісцерального жиру, в той час як в групі порівняння спостерігалось деяке його збільшення (табл. 6.16).

Порушення при ЦД 2 типу в організмі обмінних процесів, мікросудинних і макросудинних ускладнень при цьому, сприяють порушенню і кісткового метаболізму [218, 285, 297]. Якість кісткової тканини визначається мікро- і макроархітектурою її, мінералізацією матеріалу і колагеновими зв'язками, що визначає і її механічні властивості. Швидкість поширення ультразвукової хвилі (SOS) в кістці залежить, перш за все, від щільності кісткової тканини і її мінералізації. Ширококутне затухання ультразвукової хвилі (BUA) визначається, в першу чергу, розсіюванням і відбиттям хвилі в кістці, що пов'язано з її структурою та архітектонікою. В повноцінній кістці більш високочастотні коливання ультразвуку загасають сильніше, ніж низькочастотні коливання, так як довжина хвилі їх наближається до розмірів існуючих структурних параметрів кістки і вони сильніше розсіюються і відбиваються, ніж більш довгохвильові низькочастотні хвилі, які здатні за рахунок дифракції огинати кісткові трабекули [339].

Результати проведеного дослідження основних денситометрических показників якості кістки у пацієнтів з ЦД 2 типу, які брали участь в цьому дослідженні, і їх зміна під дією лікувально-профілактичного комплексу в процесі ортопедичного лікування наведені в таблиці 6.17.

Наведені дані свідчать про те, що у пацієнтів з ЦД 2 типу швидкість ультразвукової хвилі в п'ятковій кістці (SOS) була незначно нижче

середньостатистичної норми (табл. 6.17). Це свідчить про те, що на ЦД 2 типу не суттєво вплинув на загальну мінералізацію кісткових тканин наших пацієнтів. Проведені 2 рази на рік в основній групі комплексні лікувально-профілактичні заходи через 1 рік привели до збільшення показника SOS на 1%, що говорить про незначне збільшення мінералізації кісткових тканин при цьому.

Таблиця 6.17

Денситометричні показники якості кістки у пацієнтів з цукровим діабетом в процесі ортопедичного лікування, $M \pm m$

Показники	SOS, м/с	BUA, дБ/МГц	BQI, ум. од.
Групи			
Середньостатистична норма [97]	1563,4 \pm 10,3	55,2 \pm 4,1	97,7 \pm 5,9
Вихідний стан			
Група порівняння, n=17	1547,1 \pm 10,5	30,5 \pm 3,2	63,3 \pm 4,3
Основна група, n=18	1544,2 \pm 11,3 p>0,05	29,5 \pm 3,1 p>0,1	64,7 \pm 4,9 p>0,1
Через 1 рік спостереження			
Група порівняння, n=17	1555,5 \pm 9,2	28,8 \pm 3,1	65,3 \pm 6,2
Основна група, n=18	1561 \pm 9,5 p>0,05	47,8 \pm 3,7 p<0,05	83,6 \pm 5,1 p<0,05

Примітка: p – показник достовірності відмінностей від групи порівняння.

Показник загасання ультразвукової хвилі в п'яткової кістки на різних частотах (BUA) пацієнтів з ЦД 2 типу, що характеризує архітектуру кістки, виявився нижчим за норму на 84% (табл. 6.17), що свідчить про значні зміни при цьому в структурі кісткових тканин, пов'язаних з остеопенією і остеопорозом. Ці процеси призводять до збільшення відстані між трабекулами

кістки, зменшення їх по товщині, що призводить в свою чергу до збільшення розсіювання і відображення в кістці низькочастотних ультразвукових хвиль (зменшується явище огинання хвилею трабекул за рахунок явища дифракції). Збільшення загасання в кістці ультразвукової хвилі на низьких частотах призводить до зменшення градієнта ослаблення хвилі на низьких і високих частотах і, отже, зменшення BUA. Проведення лікувально-профілактичних заходів 2 рази на рік призвело до збільшення за рік спостережень в основній групі пацієнтів індексу BUA в 1,62 рази, що свідчить про певне поліпшення структури кісткових тканин.

Індекс якості кістки (BQI) є похідною величиною від SOS і BUA, розраховується запрограмованим мікропроцесором і являє собою інтегральну характеристику якості кістки. У початковому стані у пацієнтів з ЦД 2 типу індекс BQI був на 51% нижче норми, а в результаті проведених лікувально-профілактичних заходів в основній групі пацієнтів він збільшився за рік спостережень на 29%. Очевидно, що збільшення індексу BQI визначалося, в першу чергу, збільшенням при цьому індексу BUA, тобто поліпшенням архітектоніки кістки у пацієнтів з ЦД 2 типу, які отримували комплексний лікувально-профілактичний супровід ортопедичного лікування.

Висновки до розділу 6:

– Проведення в основній групі розроблених лікувально-профілактичних заходів супроводу ортопедичного лікування пацієнтів з ЦД дозволило знизити щодо групи порівняння більш ніж в 3 рази відсоток ускладнень легкої і середньої тяжкості і збільшити більш ніж в 2 рази відсоток пацієнтів без ускладнень. Пародонтальні індекси в процесі спостереження у пацієнтів з цукровим діабетом основної групи, що одержувала крім базової терапії ЛПК, системно і стабільно поліпшувалися після повторних профілактичних курсів в процесі ортопедичного лікування. У той же час в групі порівняння, що одержувала тільки базову терапію, ці зміни були недостовірними і відрізнялися від показників основної групи. Отримані

результати свідчать про досить високу ефективність розробленого ЛПК супроводу ортопедичного лікування пацієнтів з цукровим діабетом з використанням імплантатів.

– Наведені клінічні приклади ортопедичного лікування із застосуванням дентальних імплантатів пацієнтів із цукровим діабетом свідчать про необхідність обов'язкового супроводження такого лікування розробленою спеціальною лікувально-профілактичною терапією.

– Отримані результати дослідження активності еластази, каталази, вмісту малонового діальдегіду, а також антиоксидантно-прооксидантного індексу в ротовій рідині хворих на ЦД 2 типу при імплантації в супроводі лікувально-профілактичних заходів також свідчать про високу протизапальну і антиоксидантну ефективність запропонованого лікувально-профілактичного комплексу.

– Отримані результати дослідження активності уреазы, лізоциму і ступеня дисбіозу в ротовій рідині пацієнтів з ЦД 2 типу при дентальній імплантації в супроводі лікувально-профілактичних заходів свідчать про високу ефективність запропонованого лікувально-профілактичного комплексу і нормалізації у них мікробіоценозу в порожнині рота в процесі ортопедичного лікування.

– В ротовій рідині пацієнтів при ЦД 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування, встановлено підвищений вміст тригліцеридів, холестерину і глюкози. Такий стан обмінних процесів в організмі і в порожнині рота при ЦД 2 типу не може не позначитися на прогнозі результатів дентальної імплантації. У зв'язку з цим пацієнтам основної групи були призначені регулярні курси препаратів, що склали лікувально-профілактичний комплекс. Біохімічні дослідження ротової рідини показали досить високу ефективність запропонованого комплексу, що сприяє нормалізації порушених показників обмінних процесів.

– Отримані результати свідчать про те, що у пацієнтів з ЦД 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування, спостерігалася знижений бар'єрний захист ясен, що супроводжувалось підвищеною проникністю ясен для барвника розчину Ш-П і, отже, мікроорганізмів, а також позитивна реакція розчину Ш-П на резервний полісахарид глікоген, яка свідчить про наявність в яснах запалення. Крім того, у них спостерігалось порушення функціонального стану мікрокапілярного русла ясен, при якому під дією жувального навантаження замість збільшення кровотоку в капілярах відбувалося їх спазмування.

– Розроблений ЛПК, що включав препарати, що знижують холестерин і зменшують проникність судин, нормалізують обмін речовин і посилюють резистентність організму, що регулюють ліпідний обмін і виводять токсини з організму, привів у пацієнтів основної групи до певної нормалізації функціонального стану мікрокапілярного русла ясен і до зниження ступеня запальних процесів в ній, що корелювало і з поліпшенням їх стоматологічного статусу.

– Отримані результати свідчать про те, що у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування з використанням імплантатів, спостерігалось перевищення норми показників жирового обміну, що приводить до ряду негативних процесів в організмі, що ускладнюють профілактику і лікування патології тканин пародонта. Застосування 2 рази на рік розробленого лікувально-профілактичного комплексу, що включає препарати, які нормалізують жировий обмін і засвоєння жирів і білків, що знижують холестерин і зменшують проникність судин, нормалізують обмін речовин і посилюють резистентність організму, регулюють ліпідний обмін і виводять токсини з організму, призвело у них до певної нормалізації показників жирової маси, що корелювало і з поліпшенням їх стоматологічного статусу. Крім того, лікувально-профілактична терапія супроводу

ортопедичного лікування в основній групі призвела до помітного поліпшення у пацієнтів структури кістки (BUA) і, отже, поліпшенню її якості (BQI).

Матеріали розділу опубліковані в працях [1, 2, 13-16, 20], наведених у додатку А.

РОЗДІЛ 7 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Обґрунтуванням мети роботи була наявність високої поширеності дефектів зубних рядів у дорослих пацієнтів і необхідність їх ортопедичного лікування на фоні такої досить поширеної соматичної патології як цукровий діабет 2 типу. Метаболічні порушення, які спостерігаються в організмі при ЦД, перешкоджають нормальному ремоделюванню кісткової тканини, довготривалій остеоінтеграції і стабільності імплантату при ортопедичному лікуванні. В цьому випадку для запобігання ускладнень таке лікування необхідно проводити в супроводі спеціальної лікувально-профілактичної терапії.

Для патогенетичного обґрунтування вмісту таких лікувально-профілактичних заходів необхідно було попереднє проведення експериментальних досліджень на тваринах при моделюванні цукрового діабету і встановлення імплантатів, проведення генетичних і епігенетичних досліджень за участю пацієнтів з ЦД, біохімічних і біофізичних досліджень у них стану тканин пародонта, ротової рідини і оцінки клінічних результатів лікування.

У поглиблених дослідженнях брали участь пацієнти віком 30-55 років з ЦД 2 типу, направлені на дентальну імплантацію за їх наполяганням (основна група – 29 осіб, група порівняння – 24 особи). Встановлювалися як окремі імплантати в разі малих дефектів зубних рядів, так і мостовидні конструкції, в основному, з опорою на 2-3 імплантати. Контрольний огляд проводився через 3, 6 місяців та 1 рік. Спостереження пацієнтів проводилося 2-3 роки. З метою зіставлення результатів в даному дослідженні використовувалися ендоосальні системи «Біогоризонт».

Ортопедичне лікування з використанням імплантатів пацієнтів основної групи крім базової терапії супроводжувалося застосуванням лікувально-профілактичного комплексу, що включав комплекс біологічно активних

речовин (табл. 2.1). Пацієнти групи порівняння отримували тільки базову терапію.

В експерименті була проведена оцінка біохімічних показників сироватки крові щурів при моделюванні цукрового діабету 2 типу, встановлення імплантатів та проведення лікувально-профілактичних заходів. В експерименті використовувалися щури лінії Вістар стадного розведення. При роботі з тваринами керувалися Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ +1759-VI від 15.12.2009 р) з урахуванням правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях («European Convention», Страсбург, 1986).

Відтворення цукрового діабету 2 типу у щурів здійснювали за допомогою внутрішньом'язового введення протамін сульфату («Merck», Німеччина) в дозі 18 мг / кг щодня двічі на день протягом 5 днів і після двох днів перерви – ще протягом наступних 5 днів.

Лікувально-профілактичний комплекс, що вводиться тваринам з першого дня моделювання ЦД 2 типу, включав з розрахунку на 1 кг маси тіла «ПОІС» (150 мг / кг), фітоконцентрат «Імунікум» (5 крапель / кг), «Селен + Цинк актив» (25 мг / кг - 0,9 мг / кг цинку і 4,5 мкг / кг селену), «Алфавіт» і місцево у вигляді зрошення «Екстракт гінкго білоба і виноградних кісточок» (1/10 з водою). Всім тваринам під тіопенталовим наркозом (20 мг / кг) фіксували імплантат діаметром 1,2 мм і довжиною 4 мм (використовується в ортодонтії як анкера). Крім того, для профілактики дисбіозу використовувалися антидисбіотичні засоби, що розрізняються за механізмом своєї фармакологічної дії. Тварин виводили з експерименту через 2 тижні після установки імплантатів (або 4 тижні від початку експерименту і моделювання цукрового діабету 2 типу). Загальна тривалість експерименту склала 28 днів.

У сироватці крові тварин проводили визначення рівня глюкози, вмісту малонового діальдегіду, активності каталази, еластази, уреаз, лізоциму. У

тканинах пародонта тварин проводили дослідження активності еластази, уреази, лізоциму, каталази, вмісту гіалуронової кислоти і ступеня дисбіозу, рівня МДА індексу АПІ.

Крім того, були проведені морфологічні дослідження стану тканин пародонта щурів при моделюванні ЦД та ортопедичного лікування на фоні проведення відповідних лікувально-профілактичних заходів, а також імуногістохімічні, постановкою непрямої імунопероксидазної реакції з моноклональними антитілами до VEGF (моноклон, фактор росту ендотелію судин) та VAX (моноклон, активатор апоптозу).

В генетичних дослідженнях у пацієнтів з ЦД, направлених на ортопедичне лікування із використанням імплантатів, алельні варіанти генів PON1 Gln192Arg, ApoE Leu2Pro, VEGF A, C634G, TGF T869 C. оцінювали методом алель специфічної полімеразної ланцюгової реакції. Також методом ПЦР оцінювали поліморфізм генів VDR T352C rs10735810, COL1A G1997Trs1107946, гену eNos3 4A/4B, TGF- β 1 T869C, IGF-1 2716G/A, IGF-2 3323 G/A. Для оцінки прогресії метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу при дентальній імплантації було проведено аналіз аберантного метилювання гена LINE1.

При біохімічних дослідженнях в клініці проводилася оцінка показників запалення і антиоксидантного захисту в ротовій рідині хворих на ЦД 2 типу в процесі комплексного ортопедичного лікування: оцінювалися активність еластази, каталази, вміст малонового діальдегіду, антиоксидантно-прооксидантний індекс, активність уреази, лізоциму і ступень дисбіозу, а також стан мікробіоценозу в порожнині рота (рівень тригліцеридів, вміст холестерину і глюкози).

У біофізичних дослідженнях у пацієнтів з ЦД 2 типу в процесі комплексного ортопедичного лікування з використанням імплантатів вивчалася спектроколориметричним методом стан тканин пародонта (ступінь запалення) і його мікрокапілярного русла до і після жувального навантаження.

Крім того, у них була проведена оцінка основних показників жирової маси тіла і денситометричних показників якості кістки.

Терапевтичне супроводження ортопедичного лікування з опорою на імплантати пацієнтів з ЦД та метаболічними порушеннями грає найважливішу роль в остеоінтеграції у них імплантатів і стабілізації отриманих результатів лікування. Розробка лікувально-профілактичного комплексу супроводу ортопедичного лікування таких пацієнтів потребувала попередніх експериментальних досліджень.

Оцінка біохімічних показників сироватки крові щурів в процесі моделювання цукрового діабету 2 типу, фіксації імплантатів та проведення лікувально-профілактичних заходів показала, що відтворення цукрового діабету 2 типу за допомогою регулярних ін'єкцій протамін сульфату викликало достовірне збільшення вмісту глюкози на 24,0%. Профілактичне введення комплексу препаратів в поєднанні з регулярним зрошенням порожнини рота тварин на фоні розвитку ЦД 2 типу ефективно запобігало підвищенню рівня цукру в крові щурів. Моделювання патології ЦД 2 типу на фоні збільшення глюкози призвело до зниження антиоксидантного захисту організму щурів 2-ї групи, про що свідчило зменшення активності каталази на 18,6% в сироватці крові цих тварин. Установка імплантатів щурам 3-ї групи викликала ще більш значне зниження активності антиоксидантної системи – зменшення активності каталази на 34,9%. Профілактичні заходи ефективно запобігали зниженню активності сироваткової каталази, що було викликане фіксацією імплантатів на фоні розвитку експериментального ЦД 2 типу. Активність основного ферменту антиоксидантного захисту організму в сироватці крові щурів при цьому достовірно підвищилася і відповідала значенням у інтактних тварин. Результати свідчать про антиглікемічний та антиоксидантний вплив компонентів запропонованого ЛПК в умовах розвитку цукрового діабету цукрового діабету 2 типу та експериментальної установки імплантатів. У сироватці крові щурів, у яких моделювали на ЦД 2 типу, було зареєстровано також підвищення активності уреазы в 1,7 рази з одночасним зменшенням

активності лізоциму на 29,5%. Це свідчить про зниження неспецифічного антимікробного захисту в організмі при розвитку ЦД 2 типу і, як наслідок, розвиток бактеріємії. Після фіксації імплантатів у щурів 3-ї групи досліджувані показники погіршилися ще в більшій мірі: активність уреазі підвищилася в 2,3 рази, а активність лізоциму знизилася на 48,9% в порівнянні зі значеннями у інтактних щурів. Після проведення профілактичних заходів активність уреазі в сироватці крові щурів суттєво зменшилася і відповідала нормальному рівню, а рівень активності лізоциму у цих щурів достовірно підвищився, але не досягав норми. Моделювання цукрового діабету 2 типу у тварин викликало збільшення ступеня дисбіозу в 2,4 рази. Установка імплантатів щурам призвела до більш суттєвого підвищення ступеня генералізованого дисбіозу – збільшення в 4,5 рази в порівнянні з інтактною групою. Введення профілактичних препаратів і зрошення порожнини в порожнині рота у тварин з цукровим діабетом 2 типу після установки імплантатів дозволило істотно знизити ступінь дисбіозу практично до нормального рівня. У щурів, яким моделювали ЦД 2 типу, спостерігалось достовірне збільшення маркерів запалення: вмісту МДА – на 32,4% і активності еластази – на 31,6%. Отримані дані свідчать про наявність у щурів цієї групи системного запалення та активації перекисного окислення ліпідів. Фіксація імплантатів щурам сприяла ще більшому підвищенню рівня малонового діальдегіду в сироватці крові, що вказує на інтенсифікацію перекисного окислення ліпідів в організмі тварин при цьому. Комплекс профілактичних препаратів дозволив знизити вміст малонового діальдегіду на 23,1% і активність еластази – на 15,2%, що свідчить про антиоксидантну та протизапальну ефективність розробленого лікувально-профілактичного комплексу.

При моделюванні у щурів ЦД 2 типу виявлено в яснах щурів зниження рівня гіалуронової кислоти (на 23,0%), що свідчать про збільшення проникності слизової оболонки порожнини рота тварин, оскільки гіалуронова кислота виконує функцію міжклітинного «цементу». Проведення

профілактики перед установкою імплантатів запобігало зниженню рівня гіалуронової кислоти в яснах щурів з ЦД 2 типу і сприяло збереженню її нормального рівня. Інтенсифікація запалення при розвитку ЦД 2 типу тягне за собою збільшення активності уреаз (на 69,4%) і зменшення активності лізоциму (на 23,5%), які нормалізуються при проведенні лікувально-профілактичних заходів. При моделюванні ЦД 2 типу в яснах тварин спостерігалось збільшення ступеня дисбіозу в 2,1 рази, що говорить про порушення мікробіоценозу в порожнині рота. Фіксація імплантатів у щурів призвела до додаткового збільшення ступеня дисбіозу в 1,7 рази. Проведення профілактичних заходів сприяло суттєвому зниженню ступеня дисбіозу в порожнині рота тварин, незважаючи на те, що цей показник перевищував нормальні значення. Моделювання цукрового діабету 2 типу у щурів викликало зменшення активності каталази на 14,6% і підвищення рівня МДА на 38,9%, в результаті чого антиоксидантно-прооксидантний індекс зменшився на 38,1%. Установа імплантатів призвела до подальшого збільшення рівня малонового діальдегіду і зниження рівня антиоксидантно-прооксидантного індексу. Проведення профілактичних заходів у щурів з ЦД 2 типу після фіксації імплантатів ефективно попереджало порушення балансу «антиоксиданти-оксиданти» в яснах тварин. На попередньому етапі експериментальних досліджень для порівняння з використаним нами лікувально-профілактичним комплексом було проведено вивчення пародонтопротекторної дії препарату композиції антидисбіотичних засобів, що складається з пребіотика інуліну, антиоксиданту кверцетину і активатора ряду ферментів цитрату кальцію, у щурів при моделюванні дентальної імплантації і цукрового діабету. Аплікації на ясна гелю з композицією антидисбіотичних засобів практично нормалізували в ній активність еластази і вміст малонового діальдегіду, а також достовірно знижували ступінь дисбіозу. Крім того, антидисбіотичні засоби достовірно запобігали в яснах щурів падінню рівня лізоциму та антиоксидантного індексу, а активність каталази навіть дещо збільшували в порівнянні з контролем. Ці результати свідчать про здатність використаної

композиції антидисбіотичних засобів стимулювати неспецифічний імунітет і антиоксидантну систему ясен. Антидисбіотичні засоби істотно знижували падіння активності лужної фосфатази і МІ і збільшували активність кислої фосфатази, а також повністю запобігали запалення в кістковій тканині пародонту. Вміст кальцію в кістковій тканині пародонта щурів достовірно зростала при цьому. Таким чином, аплікації гелю з композицією антидисбіотичних засобів в тканинах пародонта дахах з при моделюванні імплантації і цукрового діабету 2 типу запобігали зниженню рівня неспецифічного імунітету та антиоксидантного захисту, мали протизапальну і антидисбіотичну дію і суттєво збільшували ступінь мінералізованості кісткової тканини пародонту.

Для порівняння з процесами остеогенезу і репаративної регенерації, яка відбувається при дентальній імплантації нами розглядалися процеси ремоделювання кісткової тканини у щурів при ортодонтичному втручанні, моделюванні метаболічних порушень у них і проведенні лікувально-профілактичних заходів. Отримані результати свідчать, що наявність метаболічних порушень ускладнює і процеси ортодонтичного переміщення зубів, погіршує інтеграцію імплантатів в кісткових тканинах.

Крім того, було проведено дослідження впливу магнію на стан метаболізму міжклітинного матриксу сполучної тканини пародонту щурів, його пародонтопротекторна і протизапальної дії при моделюванні метаболічних порушень. Використовувався вітамінно-мінеральний комплекс «Магній активний», який в сироватці крові щурів знижував рівень тригліцеридів, глюкози, сечової кислоти, активність аланінтрансамінази, аспартатамінотрансферази і збільшував вміст ліпопротеїнів високої щільності, знижував резорбцію кісткової тканини і збільшував в ній вміст кальцію, фосфору і активність лужної фосфатази, що свідчить про поліпшення мінерального обміну.

Також в експерименті була проведена оцінка морфологічних порушень в порожнині рота, як інтактних щурів, так і при моделюванні цукрового

діабету 2 типу, установки імплантатів і проведенні лікувально-профілактичних заходів.

У щурів інтактно́ї групи ротова порожнина на більшому своєму проміжку була покрита багатошаровим плоским неороговіваючим епітелієм і лише в області маргінальної і альвеолярної поверхні ясен визначалися ділянки ороговеваючого епітелію. Всі верстви епітеліального пласта були виражені в достатній мірі, кордони між ними були чіткі, добре візуалізувалися. Процеси кератинізації були виражені незначно. Цитоплазма візуалізувалася у вигляді тонкої базофільної добре забарвленою облямівки. У зубоясна́вому каналі з боку зуба спостерігалася відсутність зернистого шару, а клітини шиповатого шару були дещо зменшені в розмірах по рівнянню з такими, що знаходяться в інших ділянках слизової оболонки. Ознак погружного росту епітелію у тварин досліджуваної групи не спостерігалось. Власна пластинка була представлена еластичними волокнами без будь-яких ознак їх деструктивних змін. Запальні інфільтрати практично були відсутні, подекуди зустрічалися поодинокі лімфоцити, фібробласти. Еластичні волокна, що визначаються в сосочковом шарі, були без ознак деструкції. При фарбуванні по Рего зони ішемії не виявлялись ні в епітелії, ні у власній пластинці слизової оболонки. Важливим показником відсутності шкідливого чинника була слабо позитивна реакція на активатор апоптозу ВАХ. Клітинний склад власної пластинки також відрізнявся своєю одноманітністю і був представлений переважно гистиоцитами, лімфоцитами, макрофагами, поодинокими фібробластами з переважанням зрілих форм. Слід зазначити, що всі клітинні елементи були розташовані одинично, без утворень скупчень і інфільтратів. У більш глибоких шарах слизової оболонки ротової порожнини при фарбуванні за ван Гизону визначалися фуксинофільні колагенові волокна, які розміщувалися пучками. Спостерігалось помірне повнокров'я судин мікроциркуляторного русла. Всі судини були рівномірно розподілені по поверхні сосочкового шару власної пластинки, утворюючи мережу, часто анастомозуючи між собою. Судинна стінка не була змінена і була без ознак набряку і інфільтрації.

Тромботичні маси в просвіті судин були відсутні. При постановці пероксидазної реакції до VEGF було встановлено, що патерном експресії рецепторів даного білка виступають цитоплазма і клітинна мембрана і складові міжклітинного матриксу. ДАБ-позитивний компонент клітини (досліджений білок) опинявся у вигляді внутрішньоклітинних скупчень. При проведенні морфометричних досліджень встановлено, що в даній підгрупі тварин діаметр артеріол, прекапілярних артеріол, капілярів, посткапілярних венул і венул знаходилися в межах норми. Деструктивні процеси в кісткових тканинах були виражені. Трабекули губчастої кісткової тканини були добре виражені, ділянки западання на їх поверхні не було видно. При цьому визначалися поодинокі функціонально неактивні остеокласти. Остеобласти, розташовані переважно в окісті, були активні, містили гіперхромне ядро і базофільну цитоплазму. Запальні інфільтрати не спостерігалися. Остеони пластинчастої кісткової тканини були виражені добре. Судини звичайного кровонаповнення були без тромботичних мас в просвіті. Запальні інфільтрати не візуалізувалися, клітинні елементи були поодинокі і представлені гістіоцитами, лімфоцитами.

У тварин, у яких моделювали ЦД 2 типу, в порівнянні з групою інтактних щурів, були виявлені патологічні зміни з боку слизової оболонки порожнини рота, підслизового шару і судин мікроциркуляторного русла. При огляді спостерігалася блідість слизової оболонки порожнини рота, зберігалася її вразливість при доторканні шпателем. Однак, визначалися лише поодинокі фокуси ерозивних дефектів, невеликі ділянки петехіальних крововиливів, подекуди виразкові дефекти. Слизова порожнини рота була тонкою і сухою, вкрита багатошаровим плоским неороговеваючим епітелієм, в області ясен - ороговеваючим. При вивченні гістологічних препаратів, забарвлених гематоксиліном і еозином визначалося нерівномірне потовщення епітеліального шару. Явища гіперкератозу були помірно виражені і нерівномірні по всій поверхні епітелію. Клітини зернистого шару були звичайних розмірів, розташовані в 3-4 ряди, мали ромбоподібну форму

містили підвищену кількість зерен кератогиалина в своїй цитоплазмі. Зерна місцями зливалися і субтотальна заповнювали клітку. Клітини шиповатого шару були сплюснені, місцями, ближче до базального шару, зустрічалися і великі, поліедріческіх клітини з округлими гіперхромними ядрами і базофільною цитоплазмою. У цитоплазмі візуалізувалися вакуолі, що досягають великих розмірів, відтісняючи ядро на периферію. Цитоплазма клітин була базофільна, ядра гіперхромні. Слабкопозитивна PAS-реакція була більше виражена в шипуватому шарі. Дистрофічні процеси в області зубодесневого кишени виявлялися витончення шиповатого і рогового шару на тлі збільшення рогового шару. Дистрофічні процеси також спостерігалися практично по всій товщі епітелію з залученням шиповатого і зернистого шарів. Наслідком проліферативних процесів є наявність Акантотический тяжів у власній пластинці слизової оболонки. Ретикулярні волокна були добре виражені, покручені, рідко анастомозірованной між собою, утворюючи мережу. Дифузно по всій власній пластинці слизової присутні запальні інфільтрати з наявністю лімфоцитів, лейкоцитів, макрофагів, плазмоцитів. Найчастішими серед клітинних елементів були лімфоцити, тканинні базофіли, макрофаги. Слід зазначити виборчу локалізацію зазначених інфільтратів переважно в області периваскулярного простору і базальної мембрани. Базальна мембрана була потовщена, гомогенна. Також в периваскулярном просторі визначалися поодинокі фібробласти. Колагенові волокна були розташовані пучками, фуксинофільних, місцями зустрічалися поодинокі лизировать фрагментовані елементи. Ретикулярні волокна сітчастого шару були грубі, розгалужені, рідко анастомозирующие між собою з наявністю невеликої кількості лу волокон. Судини мікроциркуляторного русла були потовщені, нерівномірного кровонаповнення, з наявністю тромботичних утворень, анастомозірованной між собою. Місцями визначалися новоутворені капіляри, що утворюють мережу. У той же час відзначалися звужені судини в поєднанні з паретичних розширеними венулами з підвищеним кровонаповненням. В просвіті цих судин визначалася агрегація формених

елементів крові з утворенням тромботичних мас. Крім того, в периваскулярном просторі таких судин визначалися діapedезні крововиливи. Ендотеліоцити судин були як сплющені, так і з наявністю округлої форми. Ядра світлі, були розташовані в центрі клітини, цитоплазма була базофільна. Процеси десквамації ендотелію були виражені. При аналізі результатів пероксидазною реакції з МКА до VEGF спостерігалася її активація реакції з $0,93 \pm 0,15$ ум. од. в інтактною групі до $1,69 \pm 0,11$ ум. од. після моделювання ЦД. Патологічні процеси, викликані моделюванням цукрового діабету, були виражені і в області підслизового шару. Запальні інфільтрати розташовувалися в області периваскулярного простору, супроводжували судини, для яких були характерні виражені ознаки фібриноїдного набухання. Відзначалася при моделюванні цукрового діабету і активація процесів апоптозу, про що свідчать результати пероксидазною реакції до ВАХ, які вирости з $0,75 \pm 0,47$ усл.ед в інтактною групі до $2,17 \pm 0,16$ усл.ед в досліджуваних.

Патологічні процеси при моделюванні ЦД були виражені і в підлягають тканинах, зокрема, в гладком'язових тканини. Дані зміни характеризувалися частковим руйнуванням гладком'язових волокон, редукцією ядер.

При проведенні морфометричних досліджень було встановлено, що в порівнянні з щурами інтактною групи діаметр кровоносних судин був знижений і становив $17,14 \pm 0,93 \times 10^{-6}$ м артеріол, прекапілярних артеріол $11,54 \pm 0,39 \times 10^{-6}$ м, капілярів $6,90 \pm 0,29 \times 10^{-6}$ м, посткапілярних венул $29,52 \pm 0,73 \times 10^{-6}$ м, венул $43,21 \pm 1,67 \times 10^{-6}$ м. У кісткової тканини відзначалися зміни, відповідні деструктивним процесам. Трабекули губчастої кісткової тканини були розріджені, подекуди між собою анастомізуя, поперечні трабекули були присутні на їх поверхні, визначалися зони втягнення, іноді - западання. Остеокласти були функціонально активні, перебували на поверхні трабекулярної мережі. Остеобласти були розташовані в окістя, функціонально неактивні, остеоцитів були розташовані в лакунах, які часто ділатірованного. Кількість цитоплазматических відростків було знижено, що вказує на те, що

обмінні процеси йдуть в більш повільний ступень, ніж у тварин інтактної групи. Межтрабекулярних речовина було представлено пухкою волокнистою сполучною тканиною з великою кількістю клітинних елементів, що формують запальні інфільтрати. Колагенові волокна були частково лизировать, ретикулярні були одиничними і менш покручені, ніж у тварин інтактної групи, з'єднуючись між собою і утворюючи мережу. Остеони пластинчастої тканини також були добре виражені, в центральній частині, гаверсових каналі, містили судинно-нервовий пучок. Зустрічалися на тлі різко спазмованих, різко паретичних ділатированного судини з тромботическими масами.

Виявлені порушення в тканинах щурів при моделюванні цукрового діабету характерні для дистрофічних та проліферативних процесів, які слід порівнювати з результатами аналогічних досліджень при додатковому моделюванні дентальної імплантації і проведенні лікувально-профілактичних заходів.

Фіксація імплантатів у щурів на фоні моделювання цукрового діабету поглиблювала морфологічну картину деструктивно-запальних процесів в ротовій порожнині тварин з триваючими вазоконстрикторними змінами мікроциркуляторного русла, зі звуженням артеріол і розширенням венул, що лежить в основі подальшої активації апоптозу і перебудови тканини ротової порожнини. При дослідженні групи тварин, яким в процесі експерименту моделювався ЦД з подальшою установкою імплантатів, була виявлена блідна слизова оболонка порожнини рота, яка була стоншена, місцями набрякла, легко ранима, кровоточила при доторканні шпателем. В області ясен визначалися численні точкові, ерозійні дефекти і поодинокі виразкові, які місцями зливались. Слід зазначити виражені в значній мірі явища гіперкератозу, що проявлялися потовщенням рогового шару на фоні згладженості, стоншування шиповатого і зернистого, виявлялися ділянки ерозій. Ділянки некрозу слизової оболонки чергувалися з ділянками атрофії і проліферації. Процеси проліферації відбувалися за рахунок клітин в більшій мірі зернистого, шиповатого, а в меншій мірі базального шару.

Плоскоклітинний пласт був нерівномірно потовщений. Клітини зернистого шару були дещо збільшені в об'ємі, мали витягнуту в довжину, веретеноподібну форму, були розташовані паралельно. Цитоплазма була практично тотально заповнена включеннями кератогіаліну. Клітини шиповатого шару були також значно збільшені в розмірах, поліморфні. Мітотична активність клітин була різко знижена, мітози були поодинокі. Базальна мембрана була нерівномірно потовщена, подекуди набрякла та представлена шаром ретикулінових волокон і базальної пластинкою, а при фарбуванні як гематоксиліном і еозином, так і за ван Гізоном виглядала однорідно ущільненою. У зоні зубоясенного з'єднання формувалися пародонтальні кишені. Інтраепітеліально визначалися запальні інфільтрати, що мали іноді значні розміри і поширювалися аж до сосочкового шару дерми. Дані інфільтрати місцями зливалися. Представлені вони були переважно скупченням лімфоцитів. У той же час в області зубоясенної кишені процеси кератинізації були виражені слабо, переважали дистрофічні зміни, які проявлялися стоншенням і були максимально виражені в шиповатому і базальному шарі. Мала місце велика кількість запальних інфільтратів у власній пластинці, які були представлені клітинами: тканинними базофілами, тучними клітинами, лімфоцитами, макрофагами. Зазначені запальні елементи були дифузно розподілені по всьому сосочковому шару власної пластинки, проникаючи аж до базальної мембрани, місцями, до гладком'язових волокон та розшарюючи їх. Також лімфоплазмодитарні інфільтрати розташовувалися в периваскулярному просторі. При проведенні імуногістохімічної реакції до ВАХ відзначалася тенденція до ще більшої активації апоптозу, що в даній групі відповідає $2,88 \pm 0,52$ ум.од., і що свідчить про активний апоптотичний процес в тканинах пародонта. Судини мікроциркуляторного русла тварин були неоднорідні, кровонаповнення було нерівномірним. Зустрічалися як звужені, стенозовані судини, так і паретично дилатировані. В просвіті судин часто зустрічалися мікротромби, що місцями сягали великих розмірів, практично повністю обтуруючи судини. При цьому тромботичні маси

визначалися в капілярах, посткапілярах і венулах. Стінки судин були набряклі, набряклі, різко потовщені, з ознаками мукоїдного набухання. Дані зміни відповідали ділянкам слизової з максимально вираженою запальною лімфоплазмоцитарною інфільтрацією. Колагенові волокна в периваскулярном просторі були лизировані та фрагментовані. У даній групі відзначалася помітна активація ангиогенезу, про що свідчить підвищення інтенсивності імуногістохімічної реакції до $1,96 \pm 0,21$ ум. од. До патологічного процесу був залучений і підслизовий шар ротової порожнини тварин. Відзначалася особливо виражена запальна реакція з боку судинної стінки. Недостатнє кровопостачання призвело до появи ділянок практично гомогенного чорнуватого фарбування при використанні методики Рего. При проведенні морфометричних досліджень встановлено, що діаметр артеріол в даній підгрупі становить $15,24 \pm 1,37 \times 10^{-6}$ м, прекапілярних артеріол $9,55 \pm 0,68 \times 10^{-6}$ м, капілярів $4,77 \pm 0,37 \times 10^{-6}$ м, посткапілярних венул $32,52 \pm 0,32 \times 10^{-6}$ м, венул $48,58 \pm 1,44 \times 10^{-6}$ м, що свідчить про додаткове погіршення морфологічної картини мікроциркуляторного русла в порівнянні з інтактною групою щурів і групою з моделюванням ЦД. При цьому також відзначалися різко виражені процеси резорбції кістки, що переважали репаративні процеси. На поверхні розрідженої трабекулярної мережі визначалися добре виражені ділянки западання, що відповідали місцю скупчення остеокластів. Деструктивні процеси торкнулися і пластинки остеона, на поверхні яких визначалися місця руйнування, западання кісткової тканини.

Запропонована схема лікувально-профілактичних заходів на фоні моделювання ЦД і установки імплантатів привела у щурів до нормалізації порушеної судинної картини мікроциркуляторного русла, до зниження активності апоптотичних процесів, до зменшення запальних процесів м'яких і твердих тканин ротової порожнини і до зниження активності резорбційних процесів твердих тканин. Слизова порожнини рота була покрита багатошаровим плоским неороговіваючим епітелієм, в області ясен – ороговіваючим. Явища гіперкератозу були виражені в меншій мірі, ніж у

щурів у разі відсутності лікувально-профілактичних заходів. В значно меншому ступені мали місце ознаки, характерні для дистрофічних та проліферативних процесів. Проліферативні процеси були обумовлені перш за все шипуватим і зернистим шаром і в меншій мірі проліферацією базального шару. В цілому сполучнотканинні елементи даної групи були представлені переважно зрілими волокнами. При постановці ІГХ-реакції до активатора апоптозу ВАХ зазначалося її зниження до $1,04 \pm 0,13$ ум.од., що достовірно наближалось до показників тварин інтактної групи. Судини мікроциркуляторного русла були виражені в достатній мірі і анастомозовані між собою. Подекуди визначалися новоутворені капіляри. Процеси десквамації ендотелію не визначались. В цілому процеси ангиогенезу були не активні, про що свідчить низька експресія VEGF – $1,05 \pm 0,09$ ум. од., що практично відповідає показнику інтактної групи. Запальні інфільтрати були незначні, розташовувалися в області периваскулярного простору, також супроводжували судини, в деяких з яких виявлялися ознаки мукоїдного набухання. При проведенні морфометричних досліджень було встановлено, що діаметр артеріол в даній підгрупі становив $21,01 \pm 1,87 \times 10^{-6}$ м, прекапілярних артеріол $12,54 \pm 0,62 \times 10^{-6}$ м, капілярів $7,11 \pm 0,41 \times 10^{-6}$ м, посткапілярних венул $29,52 \pm 0,65 \times 10^{-6}$ м, венул $40,31 \pm 1,54 \times 10^{-6}$ м, що перевищувало ці показники в групі щурів, у яких моделювали тільки ЦД і дентальну імплантантацію.

У тварин, які отримували лікувально-профілактичний комплекс, губчаста кісткова тканина була представлена добре вираженою трабекулярною мережею, на її поверхні визначалися лише поодинокі ділянки западин. Резорбційні процеси практично не спостерігалися, основними клітинними елементами були остеоцити. Пластинчаста кісткова тканина була представлена остеонами з добре вираженим гаверсових каналом, який займав в них центральне положення. Деструктивні зміни в структурі остеонів не спостерігалися.

Запропонована нами схема лікувально-профілактичних заходів на фоні моделювання цукрового діабету і установки імплантатів призвела у щурів до нормалізації порушеної судинної картини мікроциркуляторного русла, до зниження активності апоптотичних процесів, до зменшення запальних процесів м'яких і твердих тканин ротової порожнини і до зниження активності резорбційних процесів твердих тканин.

Вивчення стану генів, пов'язаних з кістковим метаболізмом, як при ортопедичному, так і при ортодонтичному лікуванні зубів у пацієнтів з метаболічними порушеннями необхідно для оцінки прогнозу результатів застосування лікувально-профілактичних заходів. Тому нами був вивчений поліморфізм генів, безпосередньо або побічно пов'язаних з кістковим метаболізмом, у пацієнтів з метаболічними порушеннями, спрямованих на ортопедичне і ортодонтичне лікування.

Ген PON1 (параоксоназа 1) є геном, що кодує білок. Цей ген кодує член сімейства параоксонази ферментів. Після синтезу в нирках і печінці фермент виділяється в кровоносне русло і зв'язується з ліпопротеїнами високої щільності відповідає за їх антиоксидантні властивості, захищаючи від перекисного окислення ліпідів і гідролізуючи ксенобіотики (2 фаза детоксикації). Захворювання, пов'язані з PON1, включають мікросудинні ускладнення. Поліморфізми в цьому гені пов'язують з діабетом та ішемічною хворобою серця. Анотації генної онтології, пов'язані з цим геном, включають зв'язування іонів кальцію і зв'язування фосfolіпідів. У наших дослідженнях при наявності у пацієнтів метаболічних відхилень в гені PON1 становили 96,4% випадків (57,1% – гетерозиготи, 39,3% – мутації). Ген APOE (аполіпропротеїн E) являє собою білок, що кодує ген. Цей білок зв'язується із специфічним рецептором печінки і периферичними клітинами і необхідний для нормального метаболізму компонентів, багатих на тригліцериди та ліпопротеїни. Серед пов'язаних з ним шляхів – шлях сепатинів. Мутації в цьому гені призводять до гіперліпопротеїнемії типу III, якій властивий підвищений рівень холестерину і тригліцеридів у плазмі крові. У гені APOE,

що відповідає за метаболізм ліпопротеїнів і первинну регенерацію кісткових тканин, відхилення від норми в нашому випадку становили 57,1% (гетерозиготи).

Ендотеліальний ген NOS3 (e-NOS) являє собою білок, що кодує ген, пов'язаний з активністю оксидоредуктаз і зв'язуванням іонів заліза, сприйнятливості до коронарного спазму, регулює реакцію кісток на навантаження. У гені NOS в 42,9% випадків ми відзначали мутації і гетерозиготи.

Ендотеліальний фактор росту судин (VEGF) грає ключову роль в процесі атіогенезу, а також збільшує проникність судин, стимулює зростання ендотеліальних клітин судин, пригнічує апоптоз. Алейні варіанти VEGF пов'язані з мікросудинними ускладненнями при діабеті та атеросклерозі. Порушення в VEGF в нашому дослідженні склали 96,5% (67,9% – гетерозиготи і 28,6% – мутації).

Оцінку здатності утворення кістки, що особливо важливо, як в ортопедії, так і в ретенційному періоді ортодонтичного лікування, проліферації остеобластів проводили по гену TGF. Відхилення від норми відзначалися в 50% випадків. TGF – мультипотентні цитокін, є модулятором клітинного росту, запалення. Інгібує проліферацію і міграцію ендотеліальних клітин, інгібує імунну систему, пригнічуючи прозапальну цитокінову відповідь. Вивчення продукції ростового фактора може бути використано для оцінки динаміки перебігу захворювань.

Гени CollA1 і VDR відповідають за прогноз ускладнень при ортопедичному та ортодонтичному лікуванні, виникнення та прогресування пародонтиту, прискорення переміщення зубів та остеоінтеграції їх, визначають масу і швидкість зміни щільності кісткових тканин. Ген CollA1 кодує про-альфа 1 ланцюга колагену типу I – це колаген, який утворює фібрили, який міститься в більшості сполучних тканин і в достатку міститься в кістки і сухожиллях. Захворювання, пов'язані з CollA1 включають недосконалий остеогенез. У нашому випадку порушення в генах

колагенообранования кістки склали 32%. Ген VDR кодує рецептор вітаміну D3. Мішені для рецептора вітаміну D3 головним чином беруть участь у метаболізмі мінералів і регулюють ряд інших метаболічних шляхів, що беруть участь в імунній відповіді. У гені VDR гетерозиготи і мутації в нашому випадку склали 75%.

Отримані результати необхідно враховувати для прогнозування можливих ускладнень при імплантології, а також при розробці лікувально-профілактичних заходів супроводу такого лікування.

Аналіз впливу цукрового діабету на остеоінтеграцію імплантату виявив зміни процесів ремоделювання кістки і недостатню її мінералізацію, що призводить до уповільнення процесу остеоінтеграції. Для поліпшення клінічного результату або розробки цільової терапії у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу важливо розуміти молекулярні механізми, які призводять до відторгнення зубного імплантату. Генетичну основу схильності до довговічності зубних імплантатів складають складні взаємодії між генами колагену, ферментами металопротеїназ і тканинними інгібіторами, фенотипічні ефекти яких в процесі остеоінтеграції можуть реалізуватися по-різному у пацієнтів. Було проведено вивчення генетичного поліморфізму генів, пов'язаних з кістковим метаболізмом (CollA1-1997G / T, MMP1-1607insG, MMP9 A-8202G, TIMP1C536T, TGF- β 1 T869C, IGF-1 2716G / A, IGF-2 3323 G / A) у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, які потребують ортопедичного лікування з використанням дентальних імплантатів. У нашому дослідженні молекулярно-генетичне тестування пацієнтів с цукровим діабетом 2 типу, які потребують ортопедичного лікування з використанням дентальних імплантатів, визначило групу «ризик» з функціонально неповноцінним алелем T поліморфізму -1997G / T гена CollA1. Серед молекул, залучених в ремоделювання кісткової тканини, важливу роль відіграють ферменти з групи матриксних металопротеїназ (MMPs). MMP є сімейство цинк і кальцій-залежних ендопептидаз, ферментів, які відповідають за розкладання компонентів позаклітинного матриксу, таких як колаген,

протеоглікани, ламінін, еластин і фібронектин. Вони грають центральну роль в ремоделюванні періодонтальної зв'язки як в фізіологічних, так і в патологічних умовах. Вони секретуються у вигляді зимогенів (про-MMPs), які активуються різними протеїназами. MMP1-колагеназа відповідальна за деградацію колагену I, II і III типу, MMP9-желатинази - за деградацію колагену IV, V типів, а також еластину, фібронектину, ламініну і денатурованого колагену (желатину). Генотипування обстежених пацієнтів показало, що функціональні аллелі металопротеїназ MMP1-1607insG і MMP9 A-8202G становлять 68,2% і 45,5% відповідно. Мінорний аллель 2G MMP1 виявлен у 31,8% пацієнтів. Мінорний аллель G гена MMP9 представлений у 54,5%. Гомозиготний генотип-2G / 2G і гетерозиготний G / 2G гена MMP1 становлять 18,2% і 27,3%. 54,5% пацієнтів мають функціонально повноцінний генотип G / G. Функціональний генотип AA -820 гена MMP9 представлений лише у 18,2% обстежених пацієнтів. Функціонально неповноцінні генотипи становлять 27,3% для гомозиготного GG і 54,5% для гетерозиготного варіанти AG поліморфізму A-8202G гена MMP9. MMP-9 бере участь в процесах запалення, ремоделювання тканини, загоєння ран, мобілізації матрикс-пов'язаних факторів росту і процесингу цитокінів. У хворих зі зниженою МПК (остеопенія або остеопороз) достовірно частіше виявлявся аллель G в поліморфній позиції -1562 гена MMP9 (OR = 1,92, p = 0,007). Поліморфізми в генах MMP в значній мірі пов'язані з рядом патологій зубів і кісток, і їх присутність в періімплантній рідині може спровокувати захворювання періімплантата з подальшою втратою кісткової маси. Зазвичай ці ферменти експресуються в дуже невеликих кількостях і їх транскрипція регулюється як в позитивну, так і в негативну сторону гормонами, цитокінами і факторами росту. Регуляція активності MMP дуже важлива в процесах ремоделювання тканини і при запаленні. В умовах надлишку глюкози ендотеліальні клітини і макрофаги людини виробляють більшу кількість MMP. Було показано, що сироваткові рівні MMP1 діабетичних пацієнтів достовірно вище, ніж у індивідуумів з нормальним метаболізмом глюкози. Аналіз розподілу генотипів

у діабетичних пацієнтів виявив асоційованість генотипу 2G2G з високим рівнем MMP1, що призводить до посиленої деградації фибриллярного колагену. Регуляція активності ферментів на посттрансляційному рівні здійснюється групою ендогенних білків, званих тканинними інгібіторами металопротеїназ (TIMP). TIMP-1 відіграє роль в регуляції активних форм MMP-1, MMP-3 і MMP-9 завдяки здатності утворювати комплекс з про-MMP-9, блокуючи активацію ферменту. На цілісність сполучних тканин, що оточують зубні імплантати, впливає баланс між MMP і TIMP1. TIMP1 конститутивно експресується на низькому рівні в багатьох тканинах, але в умовах запалення і пошкодження тканин експресія TIMP1 зазвичай збільшується в порівнянні зі здоровою тканиною. В роботі була досліджена концентрація TIMP-1 в ясенній кривікулярній (щілинній) рідині у хворих з ЦД 2 типу. Концентрація TIMP-1 у пацієнтів з ЦД були схожі з аналогічними показниками у пацієнтів з гінгівітом / хронічний генералізований пародонтит без ЦД, тому було зроблено припущення, що ЦД не робить істотного впливу на концентрацію TIMP-1 в ясенній кривікулярній рідині. Запальний процес, викликаний ушкодженням тканини під час імплантації, стимулює вивільнення бета-білка TGF. При недостатній експресії TGF- β порушується регуляція виробництва імуносупресивних цитокінів, включаючи IL-4 і IL-10. Фактор TGF- β пригнічує гемопоез, синтез запальних цитокінів, відповідь лімфоцитів на IL-2, -4 і -7, формування цитотоксичних NK і Т-клітин і в той же час посилює синтез білків міжклітинної матриксу, сприяє загоєнню ран, надає анаболічну дію. Відповідальним за подальшу диференціацію остеобластів і зростання кістки є інсуліноподібний фактор росту I (IGF-I). Система IGF складається з трьох лігандів (IGF-1, IGF-2 і інсуліну), чотирьох рецепторів клітинної мембрани [IGF-рецептор типу 1 (IGF-1R), ізоформи рецептора інсуліну A (IR-A), гібридних рецепторів і IGF-рецептор типу 2 (IGF-2R)] і шість IGF-зв'язуючих білків (IGFBP1-6). IGF-I - головний представник сімейства інсуліноподібний фактор росту, що здійснюють ендокринну, аутокринну і паракринну регуляцію процесів росту. IGF-1 виробляється остеоцитами і

зрілими остеобластами і депонується в кістки, вивільняючи в міру резорбції. IGF-I структурно гомологічний інсуліну, і здатний надавати інсуліноподібний метаболічний ефект, може знижувати рівень глюкози і пригнічувати інсулінорезистентність. Генотипування обстежених пацієнтів показало, що частота алелей (2716 G / A, rs6214) інсулінового фактора росту IGF-1 G і A однакова і становить 50%, що трохи перевищує популяційні показники по Європі. Також рівно представлені і гомозиготні генотипи G / G і A / A- по 45,5%. Гетерозиготний генотип G / A гена IGF-1 мають 9% пацієнтів. Генотипування по поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів полімеразної ланцюгової реакції ми використовували для виявлення поліморфізмів генів IGF-2 (rs680). Була досліджена частота народження алелів і генотипів поліморфізму 3323 G / A гена IGF-2 у пацієнтів з діабетом 2 типу, спрямованих на дентальну імплантацію. Встановлено, що серед обстежених пацієнтів по поліморфізму 3323 G / A гена IGF-2 переважає мінорний алель A (68,2%). Алель G виявлено у 31,8% пацієнтів. Гомозиготний генотип GG в нашій вибірці пацієнтів не виявлено. Алель G представлений тільки в гетерозиготною формі Ga в 63,6%. Частота мінорного генотипу AA становить 36,4%.

Таким чином, отримані результати досліджень свідчать про те, що фактори росту роблять визначальний вплив на швидкість і якість репаративних процесів у хворих на ЦД при дентальній імплантації. Передопераційна підготовка при дентальній імплантації повинна включати лабораторні дослідження, спрямовані на оцінку генетичних факторів, які впливають на osteoінтеграцію і можливу довговічність зубних імплантатів, тобто генетичний аналіз повинен використовуватися профілактично, як частина планування процесу імплантації. Стан з високим ризиком розвитку цукрового діабету і метаболічного синдрому створює передумови до формування запально-деструктивних уражень пародонту, що необхідно враховувати при ортопедичному та ортодонтичному лікуванні таких пацієнтів.

У пацієнтів при ЦД 2 типу епігенетичні механізми можуть бути залучені в регуляцію генів, які диференційовано експресуються. Порушення механізмів епігенетичної регуляції безпосередньо або побічно пов'язане з безліччю захворювань. Це відноситься і до вкраплень послідовностей ядерного елемента 1 (LINE1), який є маркером глобального метилювання ДНК генома. Елементи LINE1 представляють собою сімейство отриманих з транспозони послідовностей повторів, диспергованих в геномі. Ядерні елементи LINE1, які чергуються, або ретротранспозони складають близько 17% ДНК людини. Вони використовують «механізм» копіювання та «вставки» для поширення себе по всьому геному через проміжні РНК (ретротранспозиція). LINE1 починаються з нетрансльованої області (UTR), яка включає в себе промотор РНК - полімерази II, дві відкриті рамки, які не перетинаються, зчитування (ORF1 і ORF2), і закінчується з іншим UTR. Вбудовуючись в геном, L1 елементи можуть змінювати рівень транскрипції гена. Одним з основних механізмів регуляції експресії ретротранспозону LINE1 є метилювання ДНК. У соматичних клітинах метилювання ДНК відповідально за підтримку і реалізацію таких фундаментальних біологічних процесів, як інактивація Х-хромосоми, геномної імпрінтинг, регуляція тканеспецифічної експресії генів, репресія ретротранспозонів в геномі. Однак зміна рівня метилювання ДНК відбувається і при патологічних процесах, які проявляються зі збільшенням віку, в тому числі при атеросклерозі, артеріальній гіпертензії, метаболічному синдромі, цукровому діабеті 2 типу. Промоторні регіони ретротранспозону містять велику кількість CpG-сайтів, які зазвичай характеризуються високим рівнем метилювання. Підвищений рівень експресії мобільного елемента супроводжується частковим деметилюванням промоторів LINE1 в 5'-UTR регіоні. Таким чином, стан метилювання LINE1 представляє інтерес як перспективний діагностичний біомаркер і терапевтична мішень для діагностики, прогнозування і терапії багатofакторних захворювань.

Нами була зроблена спроба використання аналізу аберантного метилювання LINE1 для оцінки прогресії метаболічного синдрому, діабету 2

типу при дентальній імплантації. Було проведено вивчення метилювання довгих повторюваних послідовностей гена LINE1 у хворих, спрямованих на дентальну імплантацію, з ХГП (5 осіб), з ХГП, що протікає на тлі ЦД 2 типу (4 людини), і з ХГП, що протікає на фоні метаболічного синдрому (5 чоловік). Аналіз метилювання проводили в тканинах ясен і в крові пацієнтів. Було показано, що в тканинах ясен метилювання ДНК LINE1 у хворих з ХГП і метаболічними порушеннями було достовірно нижче, ніж у пацієнтів тільки з ХГП, а у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу було ще нижче. Важливу роль в руйнуванні тканин пародонта відіграють матрикріксні металопротеїнази (MMP). Вони являють собою сімейство цинк (Zn) і кальцій (Ca) -залежних ендопептидаз, які здатні розщеплювати практично всі субстрати позаклітинного матриксу та відіграють важливу роль в різноманітних фізіологічних і патологічних процесах, які сприяють деградації і видалення колагену з пошкодженої тканини. MMP13 (коллагеназа-3) секретується епітеліальними клітинами у відповідь на дію різних екзогенних факторів, а також фібробластами, макрофагами. Гіпометилювання промотора MMP13 пов'язано з розвитком хронічного генералізованого пародонтиту і його прогресією на тлі метаболічного синдрому і діабету 2 типу. Виявлене в результаті дослідження зниження метилювання промотора гена IL-6 призводить до підвищення експресії і збільшення концентрації IL-6 у вогнищі запалення. Це в свою чергу веде до підвищення експресії металопротеїнази MMP13. В результаті статистичного аналізу була виявлена позитивна кореляція між вмістом IL-6 і MMP13 у хворих на хронічний генералізований пародонтит. Кореляційний аналіз між вмістом IL-6 і MMP13 в ротовій рідині пацієнтів з ХГП показав високий позитивний взаємозв'язок ($r = 0,50$) цих цитокінів. Тобто спостерігається асоціація гіпометилювання промоторів генів IL-6 і MMP13 з їх активацією. Гіпометилювання промоторів генів IL-6 і MMP13 у пацієнтів з ХГП на фоні метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу призводить до активації цих генів, підвищення синтезу прозапальних цитокінів IL-6 і металопротеїнази MMP13, що веде до

руйнування тканин в осередку запалення і збільшенню перебігу хронічного генералізованого пародонтиту.

Була проведена клінічна оцінка ефективності розробленого лікувально-профілактичного комплексу супроводу ортопедичного лікування з використанням імплантатів пацієнтів з ЦД. Ускладнення після ортопедичної операції були розділені на 3 ступеня. При легкому ступені через 7 днів спостерігалось загоєння рани первинним натягом без особливостей. При середньому ступені ускладнень через 7 днів після операції і після зняття швів зазначалося часткове розбіжність країв рани в місці позиціонування імплантату, убоге гнійно-геморагічне виділення з неї, слизова оболонка альвеолярного відростка набрякла і гіперемована, різкий біль при пальпації. Важка ступінь ускладнення супроводжувалася через 7 днів після операції вираженим больовим синдромом, частковим, або повним розбіжністю країв рани з оголенням імплантату, гнійно-геморогічними виділеннями, набряком і гіперемією в області перехідної складки, яка була трохи згладжена і інфільтрована, різким болем по обидва боки альвеолярного відростка при пальпації. Аналіз результатів показує, що в основній групі, що отримувала лікувально-профілактичний комплекс супроводу ортопедичного лікування, без ускладнень було 84,70% пацієнтів, в той час як в групі порівняння - 40,69%. В результаті застосування розробленого лікувально-профілактичного комплексу супроводу ортопедичного лікування у пацієнтів основної групи легка і середня ступені післяопераційних ускладнень зустрічалися відповідно в 3,3 рази і 3,5 рази рідше, ніж в групі порівняння, що одержувала тільки базову терапію. Важка форма ускладнень в основній групі при цьому не спостерігалася, а відсоток відсутності ускладнень був більш ніж в 2 рази більше, ніж в групі порівняння.

Через 3, 6 місяців і через 1 рік були відзначені істотні відмінності в основній групі і в групі порівняння показників стану тканин пародонта і рівня гігієни. Індекс поширеності процесу запалення РМА,% в групі порівняння через 1 рік спостереження збільшився на 7,9%, в той час як в основній групі

він збільшився лише на 1,5%. Індекс кровоточивості за 1 рік спостережень збільшився в групі порівняння на 0,14, а в основній групі він зменшився на 0,09. Індекс Silness-Loe, що оцінює кількість м'якого зубного нальоту, за 1 рік спостережень в групі порівняння зменшився на 13,6%, а в основній групі він знизився на 42,5%. Індекс Stallard, що визначає площу зубної бляшки, в динаміці спостереження в групі порівняння за 1 рік зменшився на 23,3%, а в основній групі – на 49,4 %

Проведені біохімічні дослідження ротової рідини у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу на різних етапах ортопедичного лікування свідчать про те, що в основній групі, що отримувала ЛПК, більшість показників, як в динаміці, так і наприкінці спостереження були кращими ніж в групі порівняння. Так, активність протеолітичного фермента еластази, що характеризує ступінь запалення в порожнині рота, однакова на початковому стані, вже через 1 місяць терапії була в основній групі майже в 2 рази нижче ніж в групі порівняння, через 6 місяців після установки імплантатів – в 6 разів, а через 1 рік – в 4 рази, що свідчить про високу протизапальну ефективність запропонованого лікувально-профілактичного комплексу супроводу ортопедичного лікування відносно базової терапії в групі порівняння. Крім деструктивної дії еластаза активує проколлагеназу і перетворює її в активну форму ферменту – колагеназу, що значно посилює процеси деструкції колагенових фібрил і білково-глікозамінгліканових комплексів тканин ротової порожнини.

Малоновий діальдегід вважається також маркером запалення, виступає в якості фактора, що ушкоджує і порушує структуру мембран, оскільки патологічні процеси призводять до інтенсифікації перекисного окислення ліпідів и зростання рівня ендогенних перекисів ліпідів. Призначення лікувально-профілактичного комплексу в основній групі пацієнтів сприяло стабільному зниженню у них рівня малонового діальдегіду в ротовій рідині до норми протягом усіх термінів спостереження. Наведені результати дослідження свідчать також про антиоксидантну ефективність лікувально-

профілактичного комплексу для пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу в процесі ортопедичного лікування (через 6 місяців установки імплантатів вміст МДА було в основній групі в 2,5 рази нижче, ніж в групі порівняння, а через 1 рік – в 1,7 рази нижче).

Про антиоксидантний характер дії запропонованого нами комплексу препаратів свідчить також оцінка в ротовій рідині активності каталази, одного з основних антиоксидантних ферментів. У початковому стані цей показник був в 2 рази нижче норми в обох групах пацієнтів. Однак уже через 1 місяць терапії в основній групі він збільшився в 2 рази, а через 1 рік – в 3 рази. У той же час в групі порівняння цей показник через 1 рік достовірно не відрізнявся від початкового значення.

Результати оцінки розрахункового антиоксидантно-прооксидантного індексу в ротовій рідині пацієнтів також свідчить про високу антиоксидантну ефективність розробленого лікувально-профілактичного комплексу. Індекс АПІ представляє собою наочне співвідношення антиоксидантних і перекисних процесів. У початковому стані у пацієнтів обох груп він був знижений більш ніж в 4 рази по відношенню до норми, що свідчить про істотне переважання процесів пероксидації ліпідів над активністю антиоксидантної системи в порожнині рота пацієнтів. Однак уже через 1 місяць терапії в основній групі він перевищував цей показник у групі порівняння в 1,5 рази, через 3 місяці - в 2,6 рази, через 6 місяців - в 3,4 рази, а через 1 рік - в 4, 6 рази, досягнувши показників норми.

Ступінь обсіменіння порожнини рота умовно-патогенної мікробіотою побічно відбивається активністю уреазы в ротовій рідині, так як цей фермент секретується різними умовно-патогенними бактеріями. На початковому етапі рівень цього маркера мікробної контамінації перевищував в обох групах пацієнтів нормальні значення в 2,8 рази, що обумовлювало необхідність проведення і антимікробних заходів. Застосування розробленого лікувально-профілактичного комплексу в основній групі пацієнтів призвело через 1 рік спостережень до зниження цього показника більш ніж в 2 рази, в той час як в

групі порівняння, що одержувала тільки базову терапію, цей показник достовірно не змінився. Отримані результати говорять і про антимікробну ефективність запропонованого лікувально-профілактичного комплексу у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, які потребують ортопедичного лікування.

Про стимуляцію за допомогою лікувально-профілактичних заходів неспецифічного антимікробного захисту ротової порожнини пацієнтів з ЦД 2 типу в процесі комплексного ортопедичного лікування свідчать результати дослідження активності лізоциму в ротовій рідині. Цей фермент відіграє найважливішу роль в системі неспецифічного антимікробного захисту порожнини рота, оскільки лізоцим руйнує бактерії і віруси, активує імуноглобуліни і фагоцитуючі лейкоцити. Зниження активності лізоциму в ротовій порожнині призводить до активного росту і розмноження умовно-патогенної і патогенної мікробіоти. У початковому стані активність лізоциму в ротовій рідині наших пацієнтів була в 2,2 рази нижче середньостатистичної норми. Однак, в основній групі, в результаті застосування ЛПК, цей показник монотонно зростав в процесі лікування і через 1 рік перевищував аналогічний показник в групі порівняння в 2,2 рази, наближаючись до середньостатистичної нормі.

Розрахунковий індекс ступінь дисбіозу, що характеризує стан системи «антимікробний захист - бактеріальна контамінація» в порожнині рота, в початковому стані в обох групах перевищував середньостатистичну норму більш ніж у 6 разів. Однак уже через 1 місяць терапії в основній групі пацієнтів він зменшився в 4 рази і залишався на цьому рівні і через 1 рік установки імплантатів. У групі порівняння цей показник достовірно за 1 рік спостережень не змінився.

У пацієнтів обох груп в наслідок порушення жирового обміну в організмі, характерного для ЦД 2 типу, в початковому стані рівень тригліцеридів в ротовій рідині перевищував норму майже в 3 рази. В основній групі пацієнтів, які отримували комплексну профілактичну терапію, він

монотонно падав в процесі ортопедичного лікування і через 1 рік був менше в 2,4 рази ніж у вихідному стані. У групі порівняння цей показник за 1 рік спостереження достовірно не змінився.

Також у початковому стані в ротовій рідині пацієнтів обох груп перевищував норму в 2 рази вміст холестерину, що підтверджувало порушення обміну речовин при ЦД 2 типу. Застосування лікувально-профілактичного комплексу дозволило знизити вміст холестерину у пацієнтів основної групи через 1 рік в 1,4 рази, в той час, як в групі порівняння цей показник дещо збільшився. Показник вмісту холестерину в ротовій рідині пацієнтів основної групи на заключних етапах спостереження, незважаючи на певне зниження, все ж дещо перевищував значення норми.

При цукровому діабеті 2 типу має місце гіперглікемія, що впливає на рівень глюкози в ротовій рідині. Вміст глюкози в ротовій рідині на початковому етапі лікування у пацієнтів з ЦД 2 типу перевищувало значення норми в 5,5 рази. Високі концентрації глюкози в ротовій рідині чинять негативний вплив на тканини порожнини рота, ступінь дисбіозу і несприятливо можуть впливати на результат ортопедичного лікування з використанням імплантатів. В результаті проведених лікувально-профілактичних заходів в основній групі рівень глюкози у пацієнтів за 1 рік спостережень зменшився в 2,3 рази, в той час як в групі порівняння він достовірно за цей період не змінився.

Отримані результати свідчать про нормалізацію під дією ЛПК мікробіоценозу в порожнині рота, показників обмінних процесів та високу протизапальну і антиоксидантну ефективність запропонованої профілактичної терапії в процесі ортопедичного лікування пацієнтів з цукровим діабетом.

Запально-дистрофічні зміни в пародонті знаходяться в прямій залежності від таких факторів, як порушення жирового і вуглеводного обміну, судинних порушень, які є факторами, які супроводжують цукровий діабет. Використаний нами метод оцінки запалення в яснах заснований на спектроколориметричній оцінці слизової пародонту з використанням розчину

проби Шиллера-Писарева, що дозволяє розділити забарвлення слизової пародонту, пов'язане з реакцією йоду з глікогеном, і фарбування ясен самим йодним розчином, пов'язане з високою проникністю епітелію. Цей метод досліджень і діагностики слизової порожнини рота дозволяє досить чітко розділити стадії запалення і зазначені два механізми її фарбування, що дозволяє отримати кількісні характеристики. Метод дозволяє фіксувати за кольором кількісно як самі ранні стадії запалення, пов'язані з порушенням бар'єрних властивостей пародонту (зменшення зроговіння епітелію), так і відстежувати кількісно динаміку розвиненого запального процесу, що супроводжується зміною в тканинах пародонта кількості резервного полісахарида глікогену. У пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, направлених на ортопедичне лікування, спостерігалось досить сильне забарвлення слизової ясна розчином Шиллера-Писарева, як в короткохвильового (460 нм), так і в довгохвильовій (660 нм) області видимого діапазону довжин хвиль, що свідчило відповідно про низьку ефективність функціонування захисно-бар'єрної системи гіалуронова кислота - гіалуронідаза і наявності глікогену, що супроводжує запальні процеси в тканинах пародонта. Отримані результати свідчать про те, що під дією лікувально-профілактичних заходів профарбування ясен розчином Шиллера-Писарева у пацієнтів основної групи через півроку зменшилося в області довжин хвиль 460 нм на 22%, що характеризує зменшення проникності слизової ясен для барвника. В області 660 нм зменшення профарбування ясен відбулося на 25%, що характеризує зменшення концентрації глікогену в яснах і, отже, зменшення ступеня запального процесу в них. Профарбування ясен розчином Шиллера-Писарева в області довжин хвиль 460 нм і 660 нм у пацієнтів основної групи продовжувала зменшуватися і через 1 рік спостережень. У групі порівняння подібних змін в профарбуванні ясен розчином Шиллера-Писарева на різних етапах ортопедичного лікування практично не спостерігалось.

Під впливом механічного навантаження при жуванні в тканинах пародонта виникає функціональна гіперемія, що забезпечує ергономіку

посиленої роботи клітин. Ця гіперемія по тривалості і величині залежить від функціонального стану судин пародонта, величини і тривалості навантаження. Вважається, що функціональна гіперемія в пародонті відповідає метаболічній теорії, згідно з якою при навантаженні на тканину або орган зростає концентрація метаболітів, в основному гістаміну і гістаміноподібних речовин, які забезпечують розширення мікросудин. При цьому метаболіти мають викликати збудження вазомоторного центру, дратуючи тканинні рецептори, що забезпечує компенсаторну констрикцію великих судин, що ще більше збільшує кровонаповнення мікроциркуляторного русла. Підвищена концентрація вазоактивних метаболітів зберігається до тих пір, поки зберігається «сигнал-навантаження». Тобто при зникненні необхідності підвищених енергетичних затрат клітин тканин, кровонаповнення мікросудин має зменшуватися. Виникнення і зникнення зазначеної функціональної гіперемії тканин пародонта при жувальному навантаженні є сумарним результатом стану клітин, їх здатності реагувати на зовнішні чинники, стану капілярів і тону судин, адекватної вазомоторної реакції. У нашому дослідженні в якості жувального навантаження використовувалася жувальна гумка «Orbit» без цукру протягом 10 хвилин. Виникає при цьому гіперемія тканин пародонта досліджувалася спектроколіметрічним методом, при якому визначався коефіцієнт відбиття світла слизової ясна, а функціональна гіперемія і її зняття оцінювалися по зміні колірних параметрів ясна, що визначаються кровонаповненням її обмінних капілярів. Результати досліджень, проведених в початковому стані, показали, що у більшості пацієнтів з ЦД 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування з використанням імплантатів, спостерігалось під дією регламентованого жувального навантаження спазмування капілярів ясен, тобто зменшення в них кровотоку замість його збільшення. Проведена через 6 місяців оцінка усереднених по групі колірних координат ясен у пацієнтів основної групи з цукровим діабетом 2 типу до і після регламентованого нефізіологічного ЖН свідчать про те, що реакція на ЖН мікрокапілярів в результаті проведення

лікувально-профілактичних заходів змінилася. При цьому під дією жувального навантаження у пацієнтів практично зникло спазмування капілярів і спостерігалось збільшення кровотоку в них, супроводжуване збільшенням колірних координат ясен, що представляло собою вже нормальну фізіологічну реакцію. Подібна позитивна реакція капілярів на жувальне навантаження в основній групі зберігалася і через рік. У групі порівняння, пацієнти якої отримували тільки базову терапію, подібного поліпшення функціонального стану мікрокапілярного русла протягом року не спостерігалось.

Порушення, які є складовими цукрового діабету, лежать в основі механізму розвитку багатьох патологічних процесів в організмі. Органи і тканини порожнини рота, зокрема пародонт, також залучаються до патологічного процесу при цьому. Одним зі складових цукрового діабету є порушення жирового і вуглеводного обміну. Визначення основних показників жирової маси в організмі пацієнтів з ЦД 2 типу також дозволяє оцінити ефективність лікувально-профілактичного комплексу супроводу процесу ортопедичного лікування пацієнтів з використанням імплантатів. Проведені дослідження свідчать про те, що показники жирового обміну у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу основної групи, що одержувала лікувально-профілактичний комплекс, достовірно покращилися щодо групи порівняння в процесі ортопедичного лікування. Нами були отримані дані усередненого відсоткового відхилення кожного показника від норми, яка розраховувалася програмно для кожного конкретного пацієнта за середньостатистичними показниками з урахуванням віку, ваги, зросту і питомої основного обміну. Показник індексу маси тіла, що представляє собою співвідношення ваги пацієнта і його росту, в початковому стані у пацієнтів з ЦД 2 типу перевищував норму. Через 1 рік спостережень в групі порівняння цей показник практично не змінився, в той час як в основній групі, що отримувала лікувально-профілактичний комплекс, спостерігалось зниження перевищення норми на 15%. Високі значення індексу маси тіла зазвичай пов'язані з підвищеним

ризиком різних супутніх патологій. Показник жирової маси тіла дозволяє кількісно оцінити надлишок або недолік жирової маси у пацієнтів. Надлишок жирової маси часто призводить до порушення обміну речовин, цукрового діабету, артеріальної гіпертонії, порушення роботи різних залоз внутрішньої секреції в організмі. Перевищення жирової маси у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу в порівнянні з нормою в групі порівняння за рік спостереження збільшилася в середньому по групі на 4%, а в основній групі, що отримувала лікувально-профілактичний комплекс, його перевищення норми знизилося в середньому на 9%. Ставлення жирової маси тіла до площі тіла (індекс жирової маси) дозволяє оцінити ризик виникнення цукрового діабету і його розвиток. Перевищення норми індексу жирової маси тіла в середньому по основній групі пацієнтів за рік спостережень знизилося на 6%, а в групі порівняння воно збільшилося на 1%. Для діагностики ожиріння і оцінки ризику розвитку метаболічних порушень використовується такий показник як відсоток жирової маси. При різних метаболічних порушеннях, включаючи цукровий діабет, відсоток жирової маси перевищує норму. При значному перевищенні норми жирової маси ризик розвитку цукрового діабету вважається високим. У нашому дослідженні у всіх пацієнтів з діагнозом ЦД 2 типу, спрямованих на дентальну імплантацію, процентний вміст жиру в середньому перевищувало норму, яка в основній групі пацієнтів, що одержувала лікувально-профілактичний комплекс, зменшилася за 1 рік в середньому на 9%, а в групі порівняння збільшилася на 9%. Жир, розташований навколо життєво важливих органів, таких як печінка, нирки, шлунок (вісцеральний жир) при його надлишку потрапляє в кров і приводить до збільшення вмісту холестерину, атеросклерозу, збільшення ліпопротеїдів низької і дуже низької щільності, закупорювання судин, збою гормонального фону і до різних порушень метаболічних реакцій, в тому числі в порожнині рота. Оцінка вмісту вісцерального жиру, що проводиться за виміром електричного імпедансу з урахуванням еквівалентної електричної схеми паралельного з'єднання вісцерального і підшкірного жиру, показало у

більшості пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування, перевищення норми абдомінального ожиріння. Застосування розробленого лікувально-профілактичного комплексу призвело в середньому по групі за період лікування до певного зниження рівня вісцерального жиру, в той час як в групі порівняння при цьому спостерігалось деяке його збільшення.

Проведені дослідження показали, що у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування, швидкість ультразвукової хвилі в п'яткової кістки (SOS) була незначно нижче середньостатистичної норми, що свідчить про незначний вплив ЦД 2 типу на загальну мінералізацію кісткових тканин пацієнтів. При цьому показник загасання ультразвукової хвилі в п'ятковій кістці на різних частотах (BUA) пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, що характеризує архітекtonіку кістки, виявився нижчим за норму на 84%, що свідчить про значні зміни при цьому в структурі кісткових тканин, пов'язаних з остеопенією та остеопорозом. Ці процеси призводять до збільшення відстані між трабекулами кістки, зменшення їх по товщині, що призводить в свою чергу до збільшення розсіювання і відбиття низькочастотних ультразвукових хвиль, що поширюються в кістці (зменшується явище огинання хвилею трабекул за рахунок явища дифракції). Збільшення загасання в кістки ультразвукової хвилі на низьких частотах призводить до зменшення градієнта ослаблення хвилі на низьких і високих частотах і, отже, зменшення BUA. Проведення лікувально-профілактичних заходів 2 рази на рік призвело до збільшення за рік спостережень в основній групі пацієнтів індексу BUA в 1,62 рази, що свідчить про певне поліпшення структури кісткових тканин. Індекс якості кістки (BQI) є похідною величиною від швидкості поширення ультразвукової хвилі в кістки SOS і BUA і являє собою інтегральну характеристику якості кістки. У початковому стані у пацієнтів з ЦД 2 типу індекс BQI був на 51% нижче норми, а в результаті проведених лікувально-профілактичних заходів в основній групі пацієнтів він збільшився за рік спостережень на 29%. Очевидно, що збільшення індексу BQI визначалося, в першу чергу, збільшенням при цьому індексу BUA, тобто

поліпшенням архітекtonіки кістки у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, які отримували комплексний лікувально-профілактичний супровід ортопедичного лікування.

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі представлено патогенетично, експериментально та клінічно обґрунтоване рішення актуальної проблеми стоматології – підвищення ефективності ортопедичного лікування пацієнтів з цукровим діабетом за рахунок оптимізації діагностики, експериментального, молекулярно-генетичного та епігенетичного уточнення пускового механізму каскаду порушень та розробки обґрунтованого лікувально-профілактичного комплексу супроводу ортопедичного лікування за допомогою дентальних імплантатів, що включав препарати протизапальної, детоксикантної, антиоксидантної, регулюючої мікробіоценоз дії, а також ті, що пригнічують патогенну мікрофлору, регулюють резорбцію і остеогенез кісткових тканин на різних етапах лікування.

– Аналіз літературних даних свідчить про складність і проблематичність ортопедичного лікування дорослих пацієнтів з цукровим діабетом. Тому для обґрунтування і розробки лікувально-профілактичних заходів супроводу такого лікування необхідно було провести відповідні експериментальні дослідження на тваринах, генетичні та епігенетичні дослідження за участю пацієнтів з цукровим діабетом, а також клінічну та клініко-лабораторну оцінку ефективності лікувально-профілактичного комплексу супроводу ортопедичного лікування.

– Дослідження сироватки крові щурів показало розвиток ЦД 2 типу під впливом ін'єкцій протаміну, а саме – наявності гіперглікемії, зниження неспецифічного антимікробного і антиоксидантного захисту організму і, як наслідок, інтенсифікації системного запалення, активації ПОЛ і розвитку бактеріємії. Установка імплантатів на щелепи тварин з ЦД 2 типу практично не вплинула на рівень глюкози і інтенсивність системного запалення, але призвела до більшого зниження факторів неспецифічної резистентності (активності каталази і лізоциму) з одночасним збільшенням ступеня бактеріємії, генералізованого дисбіозу і активації перекисного окислення

ліпідів. Проведення профілактичних заходів за запропонованою схемою ефективно попереджало зареєстровані порушення в сироватці крові тварин з ЦД 2 типу і після установки імплантатів. За допомогою комплексу препаратів вдалося стабілізувати рівень глюкози і МДА, активність еластази та уреаз, ступінь дисбіозу, а також зберегти на високому рівні показники неспецифічного захисту – активність каталази і лізоциму в сироватці крові щурів, яким встановлювали імпланти на фоні моделювання цукрового діабету 2 типу.

– В результаті проведеного біохімічного аналізу експериментальних тварин можна зробити висновок, що розвиток ЦД 2 типу індукує зниження неспецифічного антимікробного і антиоксидантного захисту тканин ясен, що, в свою чергу, призводить до розвитку запалення, збільшення проникності слизової оболонки, посилення контамінації ясна умовно патогенними бактеріями, активації ПОЛ в порожнині рота.

– Фіксація в щелепи щурів імплантатів в умовах ЦД 2 типу привела до більш значного пригнічення антимікробного захисту (активності лізоциму) і інтенсифікації запалення і ПОЛ, підвищення ступеня дисбіозу в яснах за рахунок кількісного збільшення умовно-патогенної мікробіоти в ротовій порожнині тварин. При цьому установка імплантатів не вплинуло на активність антиоксидантної системи (активність каталази) і рівень гіалуронової кислоти в яснах щурів.

– При ЦД 2 типу в пародонті тварин розвивався дисбіоз, запалення і знижувалась мінералізуюча активність кісткової тканини. Проведені дослідження показали також високу профілактичну протизапальну, антиоксидантну та антимікробну ефективність комплексу препаратів, які застосовували в процесі експерименту.

– Дентальна імплантація на фоні цукрового діабету посилювала дисбіоз і запалення в яснах і не покращувала стан кісткової тканини.

– Оральні аплікації гелю з композицією антидисбіотичних засобів (кверцетин + інулін + цитрат кальцію) в значній мірі запобігали зниженню рівня неспецифічного імунітету та антиоксидантного захисту, зменшували ступінь дисбіозу і запалення і збільшували мінералізованість кісткової тканини пародонту тварин. Однак, розроблений нами патогенетично обґрунтований комплекс препаратів мав більш виражені і широкі профілактичні можливості.

– Показано, що при ЦД 2 типу в тканинах пародонта щурів розвиваються ішемічні і дистрофічні процеси, що веде до розвитку у тварин деструктивно-запальних процесів, одним з факторів патогенезу якого є активація апоптозу, компенсаторна активація ангіогенезу, про що свідчить підвищення експресії VAX в 1,81 рази, VEGF в 2,89 рази.

– Фіксація імплантатів у щурів на фоні моделювання цукрового діабету посилювали морфологічну картину деструктивно-запальних процесів в ротовій порожнині тварин з триваючим вазоконстрикторними змінами мікроциркуляторного русла, зі звуженням артеріол і розширенням венул, що лежить в основі подальшої активації апоптозу і перебудови тканини ротової порожнини. Отримані результати свідчать про необхідність розробки і використання лікувально-профілактичних заходів супроводу ортопедичного лікування з використанням імплантатів у пацієнтів з цукровим діабетом.

– Запропонована схема лікувально-профілактичних заходів на фоні моделювання ЦД і установки імплантатів привела у щурів до нормалізації порушеної судинної картини мікроциркуляторного русла, до зниження активності апоптотичних процесів, до зменшення запальних процесів м'яких і твердих тканин ротової порожнини і до зниження активності резорбційних процесів твердих тканин.

– При плануванні ортопедичного і ортодонтичного лікування і розробці лікувально-профілактичних заходів супроводу такого лікування у пацієнтів з метаболічними порушеннями, в першу чергу необхідно

враховувати для прогнозування ускладнень і виникнення та прогресування захворювань тканин пародонта стан маркерів остеогенезу CollA1 і VDR, ендотеліального фактора VEGF, фактора антиоксидантного захисту PON, маркерів метаболізму ліпопротеїнів APOE, проліферації остеобластів TGF і маркера реакції кісткових тканин на навантаження NOS;

– Молекулярно-генетичне тестування поліморфізму генів CollA1 - 1997G / T, MMP1-1607insG, MMP9 A-8202G, TIMP1C536T пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, які потребували ортопедичного лікування з використанням дентальних імплантатів, визначило групи «ризик»: 9% складала пацієнти з функціонально неповноцінним аллелем T поліморфізму - 1997G / T гена CollA1; функціонально неповноцінні алелі генів MMP1-1607insG і MMP9 A-8202G виявлені у 31,8% і 54,5% пацієнтів відповідно; серед обстежених пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу не виявлено поліморфізму C536T генаTIMP-1.

– Молекулярно-генетичне тестування поліморфізму генів трансформуючого фактора росту TGF T869C і інсулінових факторів зростання IGF1 2716G / A, IGF2 3323 G / A у пацієнтів з діабетом 2 типу, які потребували ортопедичного лікування з використанням дентальних імплантатів виявило, що 31,8% пацієнтів є носіями алелі C поліморфізму T869C гена TGF- β 1, 45,5% в гетерозиготною формі T / C і 9% в гомозиготной CC, що передбачає у даних пацієнтів зниження мінеральної щільності кістки і діабетичних мікросудинних ускладнень. Наявність мутованого аллеля A поліморфізму 2716G / A гена IGF-1 у 50% обстежених пацієнтів обумовлює більш низькі рівні експресії гена IGF-1, що посилюються наявністю діабету. Мінорний алель аполіморфізму 3323 G / A гена IGF-2 переважає в даній групі пацієнтів (68,2%), частота мінорного генотипу AA становить 36,4%, що пов'язано з низькими циркулюючими рівнями інсулінового фактора росту 2. Гомозиготний генотип GG в нашій вибірці пацієнтів не знайдений. Ортопедичне лікування пацієнтів з цукровим діабетом з використанням імплантатів має супроводжуватися

проведенням лікувально-профілактичних заходів, що впливають на їх остеointegraцію;

– У пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом виявлено достовірне додаткове зниження рівня метильованої ДНК LINE1 в тканинах ясен і крові з ЦД 2 типу та метаболічним синдромом у порівнянні з пацієнтами без метаболічних порушень. Вміст метильованої ДНК LINE1 в тканинах ясен у пацієнтів з ХГП корелює зі вмістом метильованої ДНК гена IL-6 ;

– Ступінь метилювання промотора гена IL-6 зменшується як зі збільшенням ступеня розвитку ХГП, так і з наявністю метаболічного синдрому. Цей процес посилюється на фоні поєднання метаболічного синдрому та ЦД 2 типу.

– Гіпометилювання промотора MMP13 пов'язано з розвитком хронічного генералізованого пародонтиту і його прогресією на фоні метаболічного синдрому і ЦД 2 типу.

– Кореляційний аналіз між ступенем метильованої ДНК генів IL-6 і MMP13, а також вмістом IL-6 і MMP13 в ротовій рідині пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом показав високий позитивний взаємозв'язок цих цитокінів.

– Проведення розроблених лікувально-профілактичних заходів супроводу ортопедичного лікування пацієнтів з ЦД дозволило знизити щодо групи порівняння більш ніж в 3 рази відсоток ускладнень легкої і середньої тяжкості і збільшити більш ніж в 2 рази відсоток пацієнтів без ускладнень. Пародонтальні індекси в процесі спостереження у пацієнтів з ЦД основної групи, що одержувала крім базової терапії ЛПК, системно і стабільно поліпшувалися після повторних профілактичних курсів в процесі ортопедичного лікування. У той же час в групі порівняння, що одержувала тільки базову терапію, ці зміни були недостовірними і відрізнялися від показників основної групи. Отримані результати свідчать про досить високу ефективність розробленого лікувально-профілактичного комплексу

супроводу ортопедичного лікування пацієнтів з ЦД з використанням імплантатів.

– Отримані результати дослідження активності еластази, каталази, вмісту МДА, а також антиоксидантно-прооксидантного індексу в ротовій рідині хворих на ЦД 2 типу при імплантації в супроводі лікувально-профілактичних заходів свідчать про високу протизапальну і антиоксидантну ефективності запропонованого ЛПК.

– Дослідження активності уреаз, лізоциму і ступеня дисбіозу в ротовій рідині хворих на ЦД 2 типу при дентальної імплантації в супроводі лікувально-профілактичних заходів свідчать про високу ефективність запропонованого ЛПК і нормалізації у них мікробіоценозу в порожнині рота в процесі ортопедичного лікування

– У ротовій рідині пацієнтів при ЦД 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування, встановлено підвищений вміст тригліцеридів, холестерину і глюкози. Такий стан обмінних процесів в організмі і в порожнині рота при ЦД 2 типу не може не позначитися на прогнозі результатів дентальної імплантації. У зв'язку з цим пацієнтам основної групи були призначені регулярні курси препаратів, що склали лікувально-профілактичний комплекс. Біохімічні дослідження ротової рідини показали досить високу ефективність запропонованого комплексу, що сприяє нормалізації порушених показників обмінних процесів

– Отримані результати свідчать про те, що у пацієнтів з ЦД 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування, спостерігався знижений бар'єрний захист ясен, що супроводжувався підвищеною проникністю ясен для барвника розчину Ш-П і, отже, мікроорганізмів, а також позитивна реакція розчину Ш-П на резервний полісахарид глікоген, яка свідчить про наявність в яснах запалення. Крім того, у них спостерігалися порушення функціонального стану мікрокапілярного русла ясен, при якому під дією ЖН замість збільшення кровотоку в капілярах відбувалося їх спазмування.

– Розроблений ЛПК, що включав препарати, що знижують холестерин і зменшують проникність судин, нормалізують обмін речовин і посилюють резистентність організму, що регулюють ліпідний обмін і виводять токсини з організму, привів у пацієнтів основної групи до певної нормалізації функціонального стану мікрокапілярного русла ясен і до зниження ступеня запальних процесів в ній, що корелювало і з поліпшенням їх стоматологічного статусу.

– Проведені дослідження свідчать про те, що у пацієнтів з ЦД 2 типу, спрямованих на ортопедичне лікування з використанням імплантатів, спостерігалось перевищення норми показників жирового обміну, що призводить до ряду негативних процесів в організмі, що ускладнюють профілактику і лікування патології тканин пародонта. Застосування 2 рази на рік розробленого ЛПК, що включає препарати, які нормалізують жировий обмін і засвоєння жирів і білків, що знижують холестерин і зменшують проникність судин, нормалізують обмін речовин і посилюють резистентність організму, що регулюють ліпідний обмін і виводять токсини з організму, призвело у них до певної нормалізації показників жирової маси, що корелювало і з поліпшенням їх стоматологічного статусу. Крім того, лікувально-профілактична терапія супроводу ортопедичного лікування в основній групі призвела до помітного поліпшення у пацієнтів структури кістки (BUA) і, отже, поліпшенню її якості (BQI).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Рекомендувати для підвищення ефективності профілактики ускладнень при ортопедичному лікуванні пацієнтів з цукровим діабетом використовувати детоксиканти, регулятори мікробіоценозу, препарати, що пригнічують патогенну мікрофлору, антиоксиданти, біофлавоноїди, вітамінно-мінеральні комплекси.

2. Рекомендувати для уточнення плану та оптимізації лікувально-профілактичних заходів супроводу ортопедичного лікування пацієнтів з ЦД 2 типу проводити на клітинах букального епітелію молекулярно-генетичну оцінку стану маркерів остеогенезу Col1A1 і VDR, ендотеліального фактора VEGF, фактору антиоксидантного захисту PON, проліферації остеобластів TGF та маркера реакції кісткових тканин на навантаження NOS.

3. Рекомендувати при розробці лікувально-профілактичних заходів супроводу ортопедичного лікування пацієнтів з ЦД 2 типу за допомогою імплантатів проводити оцінку показників жирового обміну в організмі, рівень функціональних реакцій в порожнині рота і показників кісткового метаболізму.

4. Рекомендувати використовувати на різних етапах ортопедичного лікування пацієнтів з ЦД 2 типу розроблений і апробований в клініці ЛПК, що включає препарати «ПОІС», «Імунікум», «Селен+цинк актив», «Алфавіт» і «Екстракт гінкго білоби та виноградних кісточок».

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абрамов А. В., Ганчев К. С., Вородеева Ю. І. Залежність постекстракційних ускладнень при експериментальному цукровому діабеті від ступеня тяжкості та терміну перебігу патології. Клінічна та експериментальна патологія. 2017;3(2):8.
2. Аметов А.С. Сахарный диабет 2 типа: проблемы и решения. М.: ГЭОТАР– Медиа, 2012
3. Ачех Т. В. Диабетология. Учебное пособие. – Майкоп: изд-во МГТУ, 2015. – 92 с
4. Базилевская Е. М., Якубова И. Ш., Топанова А. А. Оценка генетической предрасположенности молодых жителей г. Санкт-Петербурга к заболеваниям, связанным с нарушением обмена кальция. Клинические и экспериментальные исследования. 2014;3(52):96-101.
5. Беззубик С. Д., Гречуха А.М. Экспериментальное обоснование применения биоактивного стеклокристаллического биоматериала Боситалл-11 для замещения костных дефектов челюстных костей. Стоматология. 2009;3:26-28.
6. Белиевская Р. Р., Сельский Н. Е., Сибиряк С. В. Метаболизм костной ткани и эффективность дентальной имплантации. Профилактическое использование «Остеогенона». Пародонтология. 2009;1(50):47-52.
7. Бельская Л. В., Сарф Е. А. Биохимические методы исследования слюны в лабораторной диагностике. Омск: ИНТЕХ. 2013. 78с.
8. Белякова А. С., Хесин Р. А. Особенности ведения пациентов с остеопорозом на этапе планирования дентальной имплантации. Журнал «Российская стоматология». 2015;1:85-86.
9. Беньковская С. Г., Расторгуев Б. Т., Зырянов Б. Н. и др. Состояние тканей пародонта у лиц с дисплазией соединительной ткани, пользующихся

опирающимися съёмными протезами. Маэстро стоматологии. 2011;3(43):79-80.

10. Блинова А. В., Рюмшин Р.А., Румянцев В.А. Периимпантит – основное осложнение дентальной имплантации (обзор литературы). Верхневолжский медицинский журнал. 2018;17(1):13-18.

11. Борисенко А. В., Ищенко П. В. Аналіз результатів застосування заявлених і традиційних ортопедичних конструкцій за діагностично значущими показниками у групах дослідження пацієнтів, хворих на генералізований пародонтит у стадії стабілізації. Сучасна стоматологія. 2019;3:40-47.

12. Булгакова С. В., Шафиева И. А., Кудлай Д. А. Факторы риска, как предикторы снижения минеральной плотности костной ткани у больных сахарным диабетом 2 типа старших возрастных групп. Аспирантский вестник Поволжья. 2016;1-2:68-74.

13. Бурова С. А. Системный и локализованный кандидоз у больных сахарным диабетом. Международный эндокринологический журнал. 2007;6(12):107-109.

14. Вакарева М. М. Механизмы регуляции уровня сахара в организме человека. Интеллектуальный потенциал XXI века: ступени познания. 2016;37:7-11.

15. Васильев А. В., Соловьева А. М. Использование зубной пасты с триклозаном и сополимером у пациентов с дентальными имплантатами. Научно-практический журнал Институт Стоматологии. 2011;4(53):48-49.

16. Васильев С. А., Толмачёва Е. Н., Лебедев И. Н. Эпигенетическая регуляция ретротранспозона LINE1 и его роль в эмбриогенезе. Генетика. 2016; 52(12):1349-1357.

17. Геннадиник А. Г., Нелаева А. А. Роль инсулиноподобного фактора роста-I в метаболизме, регуляции клеточного обновления и процессах старения. Ожирение и метаболизм. 2010;2:10-15.

18. Глазунов О. А., Меладзе И. Н., Глазунова С. О. Особенности перебігу генералізованого пародонтиту у осіб з ожирінням, ускладненим метаболічним синдромом. Інновації в стоматології. 2016;4:40-44.
19. Голицына А. А., Югай Ю. В., Чагина Е. А., Первов Ю. Ю., Романчук А. Л. Сравнительный анализ системы металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов при пародонтите у пациентов с сахарным диабетом II типа. Российский иммунологический журнал. 2018;12(3):247-254.
20. Горобець О. В., Стогіна В.О., Носарь В.І. та ін. Порівняльна характеристика напруження кисню у навколощелепних тканинах на різних етапах імплантації у хворих з частковими дефектами зубів на нижній щелепі. Стоматолог (Харків). 2008;4:4042.
21. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике. – Одесса: Экология, 2005. – 616 с.
22. Григорьян А. С., Орлов А. А., Сабурин И. Н. и др. Динамика остеогенетического процесса, вызванного инокуляцией аутогенных мезенхимальных стволовых клеток, выделенных из жировой ткани (экспериментально-морфологического исследование). Стоматология. 2015;3:4-8.
23. Гуляева О. А., Аверьянов С. С. Профилактика воспалительных осложнений последенальной имплантации. Пародонтология. 2017;22(2):84-88.
24. Гунько М. В. Остеопороз и денальная имплантация. Стоматология. 2009;73(6):73-78.
25. Гуц Ю. В. Роль степени кератинизации слизистой оболочки полости рта в оценке результатов пробы Шиллера-Писарева. Стоматология. 1989;2:72.
26. Данилевский Н. Ф., Вишняк Г. Н., Политун А. М. Пародонтология детского возраста. – К.: Здоров'я, 1981. – С. 13-14.

27. Дедов И. И., Сунцов Ю. И., Болотская Л. Л. Скрининг осложнений сахарного диабета как метод оценки лечебно- профилактической помощи больным. Сахарный диабет. 2006;4(33):38-42.

28. Дейчман А. М. Повторы, нестабильность генома и онкогенез. Возможный биосинтез олигонуклеотидов вне генома. Монография - М.: Мир науки, 2015. - 169 с. ISBN 978-5-9906296-7-7

29. Демьяненко С. А., Дробязко М. Г., Рожко П. Д. Пародонтопротекторное действие комплекса антибиотических средств при экспериментальной имплантологии на фоне сахарного диабета. Российский вестник дентальной имплантологии. 2018;3-4:21-25.

30. Демьяненко С. А., Дробязко М. Г., Рожко П. Д. Состояние пародонта у крыс после имплантологической операции на фоне сахарного диабета 2 типа. Российский стоматологический журнал. 2017;21(6):313-316.

31. Деньга А. Э., Вербицкая Т. Г., Рожко П. Д. Оценка нарушений в генетических маркерах, связанных с костным метаболизмом у пациентов с зубочелюстными аномалиями на фоне метаболического синдрома. Актуальные проблемы транспортной медицины. 2020;1(59):59-64.

32. Деньга А. Э., Рожко П. Д., Макаренко О. А. Минерализационные процессы в костной ткани крыс при экспериментальном моделировании метаболического синдрома и ортодонтического перемещения зубов. Вестник стоматологии. 2019;31(1):11-14.

33. Деньга А. Э., Рожко П. Д., Шнайдер С. А. Влияние витаминно-минерального комплекса «магний активный» на состояние крови и тканей пародонта крыс в условиях моделирования метаболического синдрома. Вісник морської медицини. 2019;1:57-64.

34. Деньга О. В., Обуховский В. А., Деньга Э. М. Спектроколориметрические исследования твердых тканей зубов, тканей пародонта и функциональных реакций в микрокапиллярном русле десны при имплантологическом вмешательстве. Вісник стоматології. 2008;5-6:78-83.

35. Десятниченко К. С., Киченко С. М., Курдюмов С. Г. О роли протеома тканеинженерной конструкции при возмещении костных дефектов синтетическими остеопластическими материалами. Пародонтология. 2015;4(77):49-52.
36. Димчева Т. И. Сравнительное изучение эффективности стоматологического ортопедического лечения больных диабетом с использованием разных конструкционных материалов и видов протезирования. Вісник стоматології. 2012;3:87-90.
37. Добровольская О. В. Современный взгляд на осложнение в дентальной имплантации. Клінічна стоматологія. 2019;3:32-36.
38. Дробышев А. Ю., Пивоваров Н. А., Мануйлов Б. М. Современные препараты фитотерапии – профилактика послеоперационных осложнений после дентальной имплантации. Российская стоматология. 2015;1:90.
39. Ейсмунд А. П. Особливості структурно-функціональних властивостей кісткової тканини у хворих з дентальною імплантацією. Імплантологія. Пародонтологія. Остеологія. 2013;4(32):24-28.
40. Ефремов О. С. Особенности амбулаторного стоматологического приема больных, страдающих сахарным диабетом. Автореф. дис. канд. мед. наук,- М., 2007.-26
41. Жирнова А. И., Щербаков А. С., Червинец Ю. В. Клинические особенности тканей полости рта у пациентов с сахарным диабетом, проходящих ортопедическое стоматологическое лечение протезами из различных конструкционных материалов. Современные проблемы науки и образования. 2015;4:34-42.
42. Загорский В. А. Морфология костной ткани при дентальной имплантации. Методические рекомендации. – Москва: Либри Плюс, 2017. – 21 с.
43. Зиммет П. Быстрый рост распространенности сахарного диабета II типа и угроза эпидемии этого заболевания в будущем. Український медичний часопис. 2002;3(29):5.

44. Зорина О. А., Борискина О. А. Взаимосвязь полииорфизма генов некоторых коллагенов с развитием заболеваний пародонта. Медико-фармацевтический журнал «Пульс». 2012;5(14):9-10.
45. Зуабі О., Горвіц Дж., Пелед М. та ін. Рентгенологічні зміни навколо імплантатів, що були негайно відновлені реставраціями, у пацієнтів з захворюваннями пародонту. Імплантологія. Пародонтологія. Остеологія. 2010;2:37-39.
46. Зюлькина Л. А., Сабаева М. Н., Иванов П. В., Шастин Е. Н. Микроциркуляция тканей пародонта: причины нарушений и механизмы коррекции. Современные проблемы науки и образования. 2017;2. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26259> (дата обращения: 11.07.2019).
47. Иващенко А. В., Марков И. И., Ильин А. Н. Морфологические аспекты дентальной имплантации (обзор литературы). Морфологические ведомости. 2007;3-4:186-189.
48. Кабаков В. В., Аніщенко О. В., Павленко О. В. та ін. Стоматологічна допомога в Україні. Довідник МОЗ України та Інституту стоматології НМАПО ім. П.Л. Шупика. Київ, 2011. - 86 с.
49. Какачи К., Нейгебауэр Й., Шлегел А., Сэйдел Ф. Справочник по дентальной имплантологии. М. : МЕДпресс-информ, 2009. - 208 с.
50. Калашникова М. Ф., Сунцов Ю. И., Белоусов Д. Ю., Кантемирова М.А. Анализ эпидемиологических показателей сахарного диабета 2 типа среди взрослого населения города Москвы. Сахарный диабет. 2014;3:5-16.
51. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. – СПб.: Фолиант, 2008. – 551 с.
52. Климонтов В. В., Фазуллина О. Н. Взаимосвязь композитного состава тела с минеральной плотностью костной ткани у женщин с сахарным диабетом 2 типа в постменопаузе. Сахарный диабет. 2015;18(1):65-69.
53. Коненков В. И., Климонтов В. В. Хроническое воспаление и нарушения регуляции ангиогенеза у больных сахарным диабетом 2 типа.

Сахарный диабет – 2017: от мониторинга к управлению: Материалы II Российской мультидисциплинарной конф. С междунар. участием, 19-20 апреля 2017, г. Новосибирск. -Новосибирск: ИД «Манускрипт», 2017. – 59-63 с.

54. Королюк М., Иванова Д., Майорова И. Метод определения активности каталазы. Лабораторное дело. 1988;1:16-18.

55. Кравченко Л. С., Пасечник А. М., Бас А. О., Розуменко О. П. Вплив нового гелю на інтенсивність місцевих процесів вільнорадикального окислення в тканинах операційного поля порожнини рота при дентальній імплантації. Український стоматологічний альманах. 2012;3:80-82.

56. Кравченко Л. С., Пасечник А. М., Пасечник А. В. и др. Оценка эффективности комплексного применения нового геля при дентальной имплантации. Український стоматологічний альманах. 2012;3:83-86.

57. Крылов М. Ю., Маслова К. А., Короткова Т. А. и др. Полиморфизм гена трансформирующего фактора роста бета 1 при постменопаузальном остеопорозе. Научно-практическая ревматология. 2009;1:18-23.

58. Кузнецов С. В. Дентальная имплантация у пациентов с соматической патологией: автореф. дис. на соискание ученой степени к. мед. н.: спец. 14.01.22 «Стоматология» / С. В. Кузнецов. – Москва, 2009 – 26с.

59. Кузьменко Д. И., Климентьева Т. К. Церамид: роль в апоптозе и патогенезе резистентности к инсулину. Обзор. Биохимия. 2016;81(9):1155-1171.

60. Кулаков А. А., Гусева И. Е. Функционально-диагностическая оценка результатов зубной имплантации. Новое в стоматологии. 1997;8:39-42.

61. Куц П. В., Гомоляко І. В., Шматко В. І., Тумасова К. П. Характеристика нейтрофільних гранулоцитів крові при ускладненнях дентальної імплантації. Український стоматологічний альманах. 2011;6:89-95.

62. Лабис В. В., Хайдуков С. В., Гусева О. А. и др. Иммунологические аспекты остеоинтеграции дентальных имплантатов. Российская стоматология. 2015;1:92-93.

63. Ларін О. С., Кирилюк М. Л., Третяк О. Е. та ін. Остеопороз: вплив віку, статі, ожиріння та цукрового діабету. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2014;1:3-14.

64. Лебедев И. Н., Саженова Е. А. Эпимутации импринтированных генов в геноме человека: классификация, причины возникновения, связь с наследственной патологией. Генетика. 2008;44:1356-1373.

65. Левицкий А. П., Волянский Ю. Л., Скидан К. В. Пребиотики и проблема дисбактериоза. Харьков: ЭДЭНА; 2008.

66. Левицкий А. П., Деньга О. В., Макаренко О. А. и др. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости. Методические рекомендации. – Одесса: КП «Одеська міська друкарня», 2010. - 16 с.

67. Левицкий А. П., Макаренко О. А., Демьяненко С. А. Методы экспериментальной стоматологии / Учебное пособие. – Симферополь, ООО «Изд-во Тарпан», 2018. - 78 с.

68. Левицкий А. П., Макаренко О. А., Деньга О. В. и др. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза: методические рекомендации. Киев: ГФЦ; 2005; 50 с.

69. Левицкий А. П., Макаренко О. А., Селиванская И. А. и др. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков. Методические рекомендации. – К.: ГФЦ, 2007. - 22 с.

70. Левицкий А. П., Макаренко О. А., Селиванская И. А. и др. Адаптационно-трофическая профилактика профессиональных заболеваний. Сб. Материалы III международного конгресса «Медицина транспорта – 2015», г. Одесса, 15–17 сентября 2015 г; 127–8.

71. Левицкий А. П., Макаренко О. А., Хромагина Л. Н. и др. Биохимические механизмы лечебно-профилактических эффектов биофлавоноидов. Український біохімічний журнал. 2014;86(5):18-9.

72. Левицкий А. П., Николишин А. К., Ступак Е. П., Скидан К. В. Дисбиотические аспекты патогенеза, профилактики и лечения

стоматологических заболеваний. Проблеми екології та медицини. 2011;15(3):103-6.

73. Левицкий А. П., Рейзвих О. Э. Взаимосвязь дисбактериоза и стоматологических заболеваний у детей (обзор литературы). East Eur. Sci. J. (Wschadrioeuropejskie Czasopismo Naukowe). 2016;5(9):99-103.

74. Левицкий А. П., Цисельский Ю. В. Дисбиоз, диабетическая ретинопатия и пребиотики. Одесса: КП ОГТ; 2012.

75. Лекишвили М. В., Дробышев А. Ю., Васильев М. Г. и др. Использование измельченного деминерализованного костного матрикса в процессе подготовки и проведения дентальной имплантации. Российский стоматологический журнал. 2009;4:15-18.

76. Леонтьева И. В. Метаболический синдром как педиатрическая проблема. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2008;53(3):4-16.

77. Леус. П. А. Значение гигиены полости рта в успешном замещении утраченных зубов методом имплантации. Маэстро стоматологии. 2011;2(42):68-72.

78. Литвинова Л. С., Кириенкова Е. В., Мазунин И. О. Патогенез инсулинорезистентности при метаболическом ожирении. Биомедицинская химия. 2015;61(1):70-82.

79. Логинов А. Г., Горчаков Н. В., Олесова В. Н. и др. Характеристика ультраструктурной организации эндотелиоцитов кровеносных капилляров десны при имплантации никелида титана. Русский стоматологический журнал. 2009;6:8-13.

80. Логинова Н. К. Функциональная диагностика в стоматологии. – М.: Партнер, 1994. – 75 с.

81. Мадеева Д. В., Волкова Н. П. Роль фактора некроза опухоли в развитии инсулиннезависимого сахарного диабета. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2007;1:49-55.

82. Макарьевский И. Г., Яковенко Л. Л., Арутюнян С. Р. Первый опыт применения КВЧ-терапии в дентальной имплантологии. Материалы I Международной научно-практической конференции «Инновационные технологии управления здоровьем и долголетием человека», 8-9 апреля 2010 г., г. Санкт-Петербург, Россия

83. Макеев В. Ф., Заблоцька О. Я. Остеопороз і дентальна імплантація (огляд літератури). Український стоматологічний альманах. 2012;6:88-92.

84. Манохина И. Профессиональная гигиена, как основополагающий фактор в профилактике периимплантита. Дента. 2011;8:62-65.

85. Матрос-Таранец И. Н., Валильщикова Е. В., Баркова А.В. Оценка эффективности использования средств профессиональной и индивидуальной гигиены у пациентов с дентальными имплантатами. Український стоматологічний альманах. 2011;6:96-97.

86. Матюта М. А., Трегубов А. Н., Саркисов А. Я. Дентальная имплантация при сахарном диабете II типа. Международный студенческий научный вестник. 2016;4:119-120.

87. Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К. и др. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Слово; 2006.

88. Мирсаева Ф.З., Убайдуллаев М.Б., Вяткина А.Б., Фаткуллина С.Ш. Дентальная имплантология: уч. пособие; Под ред. проф. Ф.З. Мирсаевой. – Уфа: Изд-во ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, – 124 с.

89. Мистяков М. В., Бардымова Т. П., Цыреторова С. С. Сахарный диабет и остеопороз. Сибирский мед. журн. 2015;6:47-52.

90. Михайлов А. Е., Кузнецова Н. Л. Подготовка больных с общей соматической патологией к дентальной имплантации путем коррекции вегетативных нарушений и периферического кровотока. Научно-практический журнал Институт Стоматологии. 2011;3(52):72-73.

91. Мокрый В. Я., Зябліцев С. В., Борис Р. М. Порушення системи перекисного окислення ліпідів при цукровому діабеті 2-го типу (огляд літератури). Міжнародний ендокринологічний журнал. 2015;71(7):41-44.

92. Мудра В. М Застосування Галавіту в імунокорекції хворих на хронічний генералізований пародонтит перед дентальною імплантацією. Імплантологія. Пародонтологія. Остеологія. 2012;1(25):79-83.
93. Никитин В. С., Капитонова О. П., Антонова И. Н. Особенности дентальной имплантации у пациентов с сахарным диабетом. Трансляционная медицина. 2015;2(6):25-31.
94. Николаев Д. В., Смирнов А. В., Бобринская И. Г., Руднев С.Г. Биоимпедансный анализ состава тела человека. М.: Наука, 2009. 392 с.
95. Николаев Д. В., Щелькалина С. П. Лекции по биоимпедансному анализу состава тела человека. М.: РИО ЦНИИОИЗ МЗ РФ, 2016. 152 с.
96. Нуруллина Г. М., Ахмадуллина Г. И. Особенности костного метаболизма при сахарном диабете. Остеопороз и остеопатии. 2017;20(3):82-89.
97. Обуховский В. А. Клинико-экспериментальная эффективность применения комплекса остеотропных препаратов при дентальной имплантации : дис. ... к. мед. наук : 14.01.22 / В. А. Обуховский. – Одесса, 2008. – 170 с
98. Обуховский В. А., Деньга О. В. Клиническая эффективность комплексной профилактики осложнений при дентальной имплантации. Вісник стоматології. 2008;3:37-42.
99. Обуховский В. А., Деньга О. В., Макаренко О. А. Экспериментальное обоснование комплексной профилактики и терапии периимплантита. Вісник стоматології. 2008;2:10-15.
100. Ошноков А. К., Брагин Е. А., Барычева Л. Ю., Хараева З. Ф. Роль провоспалительных цитокинов в развитии хронического пародонтита. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2014;9(4):380-381.
101. Павленко М. А., Горбань С. А., Илык Р. Р., Shterenberg A. Что происходит вокруг дентального имплантата после его внедрения? Механизм заживления костной ткани при имплантации. Дентальные технологии. 2009;1(40):46-50.

102. Павленко О. В., Бургонський В.В. Пародонтолог в імпланталогічній команді. *Соврем. стоматология*. 2008;3:43-44.

103. Патент 46671 Україна, МПК А61N 5/00, А61К 8/00, u2009 09531. Спосіб кількісної оцінки запалення у тканинах пародонту / Деньга О.В., Деньга Е.М., Деньга А.Е.; опубл. 25.12.09, Бюл. № 24

104. Патент 47096 Україна, МПК А61N 5/00, А61К 8/00, u2009 09529. Спосіб оцінки функціонального стану мікрокапілярного русла слизової ясен / Деньга О.В., Деньга Е.М., Деньга А.Е.; опубл. 11.01.10, Бюл. № 1

105. Патент № 2619847 С Спосіб лечения захворювань пародонта у больных сахарним діабетом II типу / Александров Е.И., Кречина Е. К., Александрова Р.П. А61К 31/194 – 18.05.2017

106. Пивоваров А.В. Взаимосвязь инсулиноподобного фактора роста – 1 и показателей углеводного обмена у больных с артериальной гипертензией и сахарным диабетом 2 типа. *Научный результат. Медицина и фармацевтика*. 2017;3(1):8-14.

107. Пивоваров Н. А., Дробышев А. Ю., Мануйлов Б. М., Ромащенко В. В., Гречишнікова О. Г. Клиническая и микробиологическая оценка эффективности применения современных фито и антибактериальных препаратов у пациентов в раннем послеоперационном периоде после дентальной имплантации. *Вестник новых медицинских технологий*. 2015;9(4)31.

108. Пиндус Т. А. Профілактика ускладнень при хронічному генералізованому пародонтиті на фоні метаболічного синдрому (експериментальне, клінічне та клініко-лабораторне дослідження). *Інновації в стоматології*. 2018;1:6-12.

109. Проданчук А. И. Развитие заболеваний пародонта у детей с сахарным диабетом. *Молодой ученый*. 2015;11:708-710.

110. Пронин В. С., Колода Д. Е., Чаплыгина Е. В. Инсулиноподобные ростовые факторы в клинической практике: Инсулиноподобные факторы

роста (IGF) являются важными регуляторами функции костных клеток. Биологическая роль и перспективы использования. Клиницист. 2008;1:18-27.

111. Прудіус П. Г., Северин О. В., Письменна Н. В. Епідеміологія та економіка цукрового діабету (огляд). Ендокринологія. 2000;5(1):109-114.

112. Райан М., Вильямс Р., Гросси С. и др. Сахарный диабет и воспалительные процессы в полости рта. Клиническая стоматология. 2006;4(40):62-65.

113. Рева Г. В., Толмачёв В. Е., Калинин И. О. и др. Морфология слизистой оболочки рта в динамике дентальной имплантации у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Современные проблемы науки и образования. 2018;1:60-71.

114. Рожинская Л. Я. Остеопороз: диагностика нарушений метаболизма в костной ткани и кальций-фосфорного обмена. Качество жизни. Медицина. 2006;5:49-57.

115. Рожко П. Д. Антиоксидантная и антимикробная активность ротовой жидкости пациентов с сахарным диабетом в процессе комплексного ортопедического лечения. Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя : міжнародна наук.-практ. конференція., Київ, 2-3 жовтня 2020 р. : тези допов. – Київ, 2020. – 63-66.

116. Рожко П. Д. Влияние лечебно-профилактических мероприятий на показатели микробиоценоза полости рта у пациентов с сахарным диабетом 2 типа в процессе ортопедического лечения. Вітчизняна та світова медицина: вимоги сьогодення : міжнародна наук.-практ. конференція., Дніпро, 9-10 жовтня 2020 р. : тези допов. – Київ, 2020. – 48-51.

117. Рожко П. Д. Генетическая предрасположенность к стабильности зубных имплантатов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Актуальні питання сучасної медицини: наукові дискусії: міжнародна наук.-практ. конференція., Львів, 23-24 жовтня 2020 р. : тези допов. – Львів, 2020. – 36-40.

118. Рожко П. Д. Клиническая эффективность лечебно-профилактических мероприятий сопровождения ортопедического лечения пациентов с сахарным диабетом. *Colloquium journal*. 2020;29(81):28-32.

119. Рожко П. Д. Ортопедическое лечение пациентов с сахарным диабетом. *Colloquium journal*. 2020;27(79):43-50.

120. Рожко П. Д. Состояние тканей пародонта у пациентов с сахарным диабетом при комплексном ортопедическом лечении. *Медичні та фармацевтичні науки: історія, сучасний стан та перспективи досліджень: міжнародна наук.-практ. конференція., Одеса, 16-17 жовтня 2020 р. : тези допов. – Одеса, 2020. – 54-59.*

121. Рожко П. Д., Гаргин В. В. Морфологические изменения в полости рта крыс при моделировании сахарного диабета и установки имплантатов. *Colloquium journal*. 2020;31(83):71-76.

122. Рожко П. Д., Гаргин В. В. Патологические изменения в слизистой оболочке и сосудах микроциркуляторного русла полости рта крыс при моделировании сахарного диабета. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020;10(7):438-444.

123. Рожко П. Д., Гаргин В. В. Эффективность лечебно-профилактических мероприятий при моделировании у крыс сахарного диабета и установки имплантатов. *Colloquium journal*. 2020;28(80):33-37.

124. Рожко П. Д., Деньга О. В., Вербицкая Т. Г. Исследование полиморфизма генов COL1A1-1997G/T, MMP1-1607INSG, MMP9 A-8202G, TIMP1C536T у пациентов с сахарным диабетом 2 типа, направленных на дентальную имплантацию. *Colloquium journal*. 2020;19(71):27-30.

125. Рожко П. Д., Деньга О. В., Вербицкая Т. Г., Шнайдер С. А. Изучение полиморфизма генов трансформирующего фактора роста TGF- β 1 T869C и инсулиновых факторов роста IGF-1 1245G/A, IGF-2 3323 G/A у пациентов с сахарным диабетом 2 типа при дентальной имплантации. *Colloquium journal*. 2020;30(82):63-67.

126. Рожко П. Д., Деньга О. В., Вербицкая Т. Г., Шнайдер С. А. Метилирование промоторов генов IL-6 и MMP13 у пациентов с метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2 типа при хроническом пародонтите. *Інновації в стоматології*. 2019;2:59-66.

127. Рожко П. Д., Деньга О. В., Макаренко О. А. Биохимические показатели сыворотки крови крыс при моделировании сахарного диабета 2 типа, установке имплантатов и проведении лечебно-профилактических мероприятий. *Colloquium journal*. 2020;22(74):54-58.

128. Рожко П. Д., Деньга О. В., Макаренко О. А. Состояние микробиоценоза в полости рта пациентов с сахарным диабетом 2 типа при комплексном ортопедическом лечении. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020;1(46):31-34.

129. Рожко П. Д., Деньга О. В., Макаренко О.А. Биохимические показатели воспаления и антиоксидантной защиты в ротовой жидкости пациентов с сахарным диабетом 2 типа в процессе комплексного ортопедического лечения. *Colloquium journal*. 2020;24(76):26-30.

130. Рожко П. Д., Деньга О. В., Макаренко О.А., Шнайдер С. А. Влияние моделирования сахарного диабета 2 типа и фиксации имплантатов на биохимические показатели тканей пародонта крыс. *Вісник стоматології*. 2020;2: 22-26.

131. Рожко П. Д., Деньга О. В., Шнайдер С. А., Макаренко О. А. Метаболические процессы в организме у пациентов с сахарным диабетом в процессе ортопедического лечения. *EESJ*. 2020;8(60):18-21.

132. Рожко П. Д., Деньга Э. М. Биофизические показатели тканей пародонта у пациентов с сахарным диабетом в процессе комплексного ортопедического лечения. *Вісник стоматології*. 2020;3:60-64.

133. Рожко П. Д., Деньга Э. М. Показатели качества кости и жировой массы тела у пациентов с сахарным диабетом 2 типа в процессе ортопедического лечения. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020;49(1):18-22.

134. Романенко И. Г., Крючков Д. Ю. Генерализованный пародонтит и метаболический синдром. Единство патогенетических механизмов развития. Крымский терапевтический журнал. 2011;1:60-67.
135. Сазонова Т. Г., Архипенко Ю. В. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма. Патолог. физиология и эксперим. терапия. 2007;3:2-18.
136. Саркисов Д. С., Перов Ю. Л. Микроскопическая техника: Руководство. М: Медицина, 1996. – 544 с.
137. Сидельников П. В., Скибицкий В. С. Использование гигиенических комплексов на основе наносорбентов для профилактики осложнений при дентальной имплантации. Современная стоматология. 2015;2:100-102.
138. Сидельников П.В. Системная противовоспалительная терапия больных генерализованным пародонтитом на этапах дентальной имплантации с использованием НПВП. Современная стоматология. 2008;1:171-172.
139. Сидельникова Л. Ф., Дикова И. Г., Захарова С. М. Обоснование выбора антибактериальной терапии на этапах лечения генерализованного пародонтита у пациентов с сахарным диабетом. Современная стоматология. 2016;1:24-27.
140. Скальный А.В. Микроэлементы: бодрость, здоровье, долголетие. М., Эксмо. – 2011. – 288 с.
141. Сторожев В. А., Гордиенко С. А. Подготовительные этапы при проведении стоматологической имплантации. Стоматолог. 2011;10:32-37.
142. Стрельников Е. В., Слюсарь Н. Н., Богатов В. В. и др. Характер изменений костного изофермента щелочной фосфотазы маркеров апоптоза у стоматологических пациентов в различные сроки после дентальной имплантации. Пародонтология. 2015;4:69-72.
143. Тимофеев А. А., Беда В. И., Ярифа М. А. Гигиена полости рта после проведения хирургического этапа дентальной имплантации. Современная стоматология. 2009;2:106-113.

144. Тимофеев А. А., Ярифа М. А. Профилактика постимплантационных воспалительных осложнений. Современная стоматология. 2016;2:53-57.

145. Тимофеев О. О., Ушко Н. О., Фесенко Є. І., Савицький О.О. Оцінка антибактеріальної ефективності цефуроксиму при профілактиці гнійно-запальних ускладнень після захворювань щелепно-лицевої ділянки. Современная стоматология. 2015;2:65-71.

146. Товмасян А. М., Панин А. М., Мкртумян А. М., Козлова М. В. Использование дентальных имплантатов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и остеопеническим синдромом. Саратовский научно-медицинский журнал. 2009;5(2):242-244.

147. Толстикова Н. Метаболический синдром у детей и подростков. З турботою про дитину. 2015;4(54):12-15.

148. Тронько Н.Д., Соколова Л.К., Пушкарев В.В., Ковзун Е.И., Пушкарев В.М. Молекулярные механизмы патогенеза сахарного диабета и его осложнений. К.: Издательский дом Медкнига, 2018. 260 с.

149. Туманов А. К. Основы судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств. М.: Медицина, 1975. – С. 25-42.

150. Тунева Н. А., Богачева Н. В., Тунева Ю. О. Проблемы дентальной имплантации. Вятский медицинский вестник. 2019;2(62):86-93.

151. Ульянов А. М., Тарасов Ю. А. Инсулярная система животных при хроническом дефиците гепарина. Вопросы медицинской химии. 2000;46(2):149-54.

152. Ушницкий И. Д., Терентьева З. В., Кершенгольц Б. М. и др. Применение адаптогенных препаратов для коррекции антиоксидантной системы в комплексном лечении переломов нижней челюсти. Стоматология. 2015;3:33-35.

153. Фазуллина О. Н., Шевченко А. В., Прокофьев В. Ф., Коненков В. И. Ассоциации полиморфизмов генов цитокинов и матриксных

металлопротеиназ с минеральной плотностью костной ткани у женщин в постменопаузе с сахарным диабетом 2 типа. Сахарный диабет. 2018;21(1):26-33.

154. Фазуллина О. Н., Шевченко А. В., Прокофьев В. Ф., Коненков В. И. Комбинированные генетические признаки, ассоциированные с остеопорозом, у женщин с сахарным диабетом 2 типа в постменопаузе. Сахарный диабет – 2017: от мониторинга к управлению: Материалы II Российской мультидисциплинарной конф. с междунар. участием, 19-20 апреля 2017, г. Новосибирск. -Новосибирск: ИД «Манускрипт», 2017. – с.145-148.

155. Фирсова И. В., Поройский С. В., Македонова Ю. А., Дорджиева В. В., Дорджиев Ч. В. Сравнительный анализ краевой проницаемости материалов для фиксации эндосистем. Эндодонтия Today. 2015;1:39-41.

156. Фліс П. С., Омельчук М. А., Ращенко Н. В., Скрипник І. Л., Тріль С. І. Ортодонтія. Вінниця: Нова книга, 2007. – 311 с.

157. Фрейдлин И. С., Тотолян А. А. Клетки иммунной системы. – СПб.: Наука, 2001. – 390 с

158. Фурцев Т. В., Звигинцев М. А. Реакция тканей пародонта на воздействие различных конструкций бюгельных протезов из сверхэластичного сплава никелида титана у больных сахарным диабетом. Институт стоматологии. 2005;1:58-60.

159. Хоменко Л. О., Чайковський Ю. Б., Смоляр Н. І. та ін. Терапевтична стоматологія дитячого віку. Київ: Книга плюс, 2014. – 432 с.

160. Хромова Е. А., Мороз Б. Т., Стройкова Г. С., Сивак К. В. Исследование регенераторных свойств раневого абсорбирующего покрытия в условиях экспериментального сахарного диабета 2 типа. Институт стоматологии. 2007;3(36):112-113.

161. Царев В. Н., Панин А. М., Ахмедов Г. Д. и др. Состояние иммунного статуса в динамике на фоне антибиотико- и иммунотерапии у пациентов, подготовленных к хирургическим вмешательствам в полости рта. Журнал «Российская стоматология». 2015;1:87-88.

162. Чертанова Д. Р., Поляков С. В., Чурсин Д. Н., Чигринец О. В. Анализ тенденций предимплантационного периода у соматических больных. Вестник Росздравнадзора. 2012;6:42-48.
163. Шадрина А. С., Плиева Я. З. и др. Классификация, регуляция активности, генетический полиморфизм матриксных металлопротеиназ в норме и при патологии. Альманах клинической медицины. 2017;45(4):266-279.
164. Шамолина Е. А. Оценка состояния микроциркуляции при артериальной гипертензии с метаболическими нарушениями: Автореф. дис. канд.. мед.наук. – Иваново, 2005. – 109 с.
165. Шарин А. Н., Булатова Г. В. Отдаленные результаты множественной установки имплантов в полости рта. Российский вестник дентальной имплантологии. 2007;1(4):60-65
166. Швангирадзе Т. А., Бондаренко И. З., Трошина Е. А., Никанкина Л. В., Кухаренко С. С. Шестакова М. В. 1,ТФР-β и ФРФ-21: ассоциация с ИБС у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и ожирением. Ожирение и метаболизм. 2017;14(3):38-42.
167. Шепелькевич, А. П. Остеопатии при сахарном диабете 1-го и 2-го типов: клинико-патогенетическое обоснование ранней диагностики, комплексной профилактики и лечения: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.02 / А. П. Шепелькевич; Белорус. гос. мед. ун-т. - Минск, 2013. - 43 с.
168. Шишко П. Н., Садыкова Р. Е., Ковалев Л. А., Гончаров Б. В. Проблемы эндокринологии. 1992;38(1):17-19.
169. Шнайдер С. А., Карый В. И., Карая М. В., Сенников О. Н. В кн. Шнайдер С. А., Левицкий А. П. Экспериментальная стоматология. Ч. 1. Экспериментальные модели стоматологических заболеваний. Одесса: КП ОГТ; 2017.
170. Яковлева В. И., Трофимова Е. К., Давидович Т.П. и др. Диагностика, лечение и профилактика стоматологических заболеваний – Минск: Высшая школа. 1994:14-21.

171. Ялочкина Т. О., Белая Ж. Е. Низкотравматичные переломы и костное ремоделирование при сахарном диабете 2 типа. Ожирение и метаболизм. 2017;14(3):11-18.
172. Aboyoussif H., Carter C., Jandinski J. J., Panagakos F. S. Detection of prostaglandin E2 and matrix metalloproteinases in implantcrevicular fluid. *Int J Oral Maxillofac. Implants.* 1998;13:689-696
173. Affrin. Diabetes Mellitus Associated With Oral Disease – A Retrospective Study *J. Pharm. Sci. & Res.* 2016;8(8):914-915
174. Ahmed N. Advanced glycation endproducts-role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract.* 2005;67(1):3–21.
175. Arakaki P. A., Marques M. R., MMP-1 polymorphism and its relationship to pathological processes. *Journal of Biosciences.* 2009;34(2):313-320.
176. Arends N., Johnston L., Hokken-Koelega A., et al. Polymorphism in the IGF-I gene: clinical relevance for short children born small for gestational age (SGA). *J Clin Endocrinol.* 2002;87(6):2720. doi: 10.1210/jcem.87.6.8673.
177. Balshi T. J., Wolfinger G. J. Dental implants in the diabetic patient: a retrospective study. *Implant Dent* 1999;8:355-9
178. Balshi T. J., Wolfinger G. J. Management of the posterior maxilla in the compromised patient: historical, current, and future perspectives. *Periodontol.* 2003;33:67-81.
179. Barat-Houari M., Sarrabay G., Gatinois V., Fabre A. et al. Touitou Mutation Update for COL2A1 Gene Variants Associated with Type II Collagenopathies. *Hum Mutat.* 2016;37(1):7-15.
180. Belfiore A., Frasca F., Pandini G., Sciacca L., Vigneri R. Insulin receptor isoforms and insulin receptor/insulin-like growth factor receptor hybrids in physiology and disease. *Endocr Rev.* 2009;30(6):586-623.
181. Belibasakis G. N., Johansson A., Wang Y., et al. Cytokine responses of human gingival fibroblasts to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* cytolethal distending toxin. *Cytokine.* 2005;30:56-63.

182. Bensch L., Braem M., Van Acker K. et al. Orthodontic treatment considerations in patients with diabetes mellitus. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2003;123(1):74-78.
183. Bishop N. Osteogenesis Imperfecta. *Encyclopedia of Endocrine Diseases*. 2019:355-365. doi: 10.1016/B978-0-12-801238-3.65413-2
184. Blakytyn R., Jude E. The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. *Diabetic Medicine*. 2006;23(6):594–608.
185. Body Composition Monitor Instruction manual // Omron HealthCare [Электронный ресурс]. – 2017. – Режим доступа: <https://www.omron-healthcare.com/ru/support/manuals/download/bf511-hbf-511-e-en>. - Дата доступа: 10.02.2017.
186. Bogavac-Stanojevic N., Djurovic S., JelicIvanovic Z. Circulating transforming growth factorbeta1, lipoprotein(a) and cellular adhesion molecules in angiographically assessed coronary artery disease. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2003;41(7):893-898.
187. Bonnans C., Chou J., Werb Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014;15(12):786–801.
188. Brikedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol*. 1993;64:474–484.
189. Brinckerhoff C. E., Rutter J. L., Benbow U. Interstitial collagenases as markers of tumor progression. *Clin Cancer Res*. 2000;6:4823-4830.
190. Brown M. A., Haughton M. A., Grant S. F. et al. Genetic control of bone density and turnover: role of the collagen 1alpha1, estrogen receptor, and vitamin D receptor genes. *J Bone Miner Res*. 2001;16:758-764.
191. Brunski J. B. Biomechanics of oral implants: Future research. *J. Dent. Educ*. 1988;52(7):775-787.
192. Cash H. L., McGarvey S. T., Houseman E. A. Cardiovascular disease risk factors and DNA methylation at the LINE1 repeat region in peripheral blood from Samoan Islanders. *Epigenetics*. 2011;6(10):1257-1264.

193. Cassella J. P., Barber P., Catterall A. C., Ali S. Y. A morphometric analysis of osteoid collagen fibril diameter in osteogenesis imperfecta. *Bone*. 1994;15:329-334.
194. Chan H. L., Lin G. H., Suarez F., MacEachern M., Wang H. L. Surgical management of peri-implantitis: A systematic review and meta-analysis of treatment outcomes. *J Periodontol*. 2014;85:1027-1041.
195. Chen L., Jiang W., Huang J. et al. Insulin-like growth factor 2 (IGF-2) potentiates BMP-9-induced osteogenic differentiation and bone formation. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2010;25(11):2447-2459.
196. Chih-Hsin Tang, Cheng-Fong Chen, Wei-Ming Chen. IL-6 Increases MMP-13 Expression and Motility in Human Chondrosarcoma Cells. *J Biol Chem*. 2011;1(286):11056-11066.
197. Clemmons D. R. Metabolic actions of insulin-like growth factor-I in normal physiology and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2012;41(2):425-443.
198. Cohen M. M. TGF beta/Smad signaling system and its pathologic correlates. *Am J Med Genet A*. 2003;116:1-10.
199. Costa-Junior F. R., Alvim-Pereira C. C., Alvim-Pereira F., Trevilatto P. C., de Souza A. P., Santos M. C. Influence of MMP-8 promoter polymorphism in early osseointegrated implant failure. *Clin. Oral Investig*. 2013;17:311-316
200. Crotti T. N. et al. Osteoimmunology: major and costimulatory pathway expression associated with chronic inflammatory induced bone loss. *J Immunol Res*. 2015:1-13.
201. D'Aluto F., Sabbah W., Netuveli J. et al. Association of the metabolic syndrome with severe periodontitis in a large U.S. population – based survey. *J. Clin. Endocrinol. Metabol*. 2008;10(93):3989-3994.
202. Dae Woo Hwang, Ki Tack Kim, Sang Hoon Lee, Jung Youn Kim, Dong Hwan Kim. Association of COL2A1 Gene Polymorphism with Degenerative Lumbar Scoliosis *Clin Orthop Surg*. 2014;6(4):379-384.

203. Dandona P., Aljada A., Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol.* 2004;25:4-7.
204. De Souza A. P., Trevilatto P. C., Scarel-Caminaga R.M., Brito R. B. Jr. et al. MMP1 promoter polymorphism: Association with chronic periodontitis severity in a Brazilian population. *J Clin Periodontol.* 2003;30:154-159.
205. Deas D. E., Mikotowicz J. J., Mackey S. A., Moritz A. J. Implant failure with spontaneous rapid exfoliation: case reports. *Implant Dent* 2002;11(3):235-242.
206. Degidi M., Piattelli A. Immediately loaded bar-connected implants with an anodized surface inserted in the anterior mandible in a patient treated with diphosphonates for osteoporosis: a case report with a 12-month follow-up. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2003;5(4):269-272.
207. Deng H., Huang X., Yuan L. Molecular genetics of the COL2A1-related disorders. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2016;768:1-13
208. Dent T. H. Predicting the risk of coronary heart disease. II: the role of novel molecular biomarkers and genetics in estimating risk, and the future of risk prediction. *Atherosclerosis.* 2010;213(2):352-62.
209. Devaraj S., Venugopal S. K., Singh U., Jialal I. Hyperglycemia Induces Monocytic Release of Interleukin-6 via Induction of Protein Kinase C- α and - β . *Diabetes.* 2005;54(1):85-91.
210. Di Domenico M., D'apuzzo F., Feola A. et al. Cytokines and VEGF Induction in Orthodontic Movement in Animal Models. *Journal of Biomedicine and Biotechnology.* 2012;5:1-4.
211. Ding K. H., Wang Z. Z., Hamrick M. W. et al. Disordered osteoclast formation in RAGE-deficient mouse establishes an essential role for RAGE in diabetes related bone loss. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2006;340(4):1091-1097.
212. Dong Y., Zhang H. F., Chen H., Yang X. J., Li J., Shu C. L., Cheng Y. The cytokine secretion of peripheral blood mononucleocytes from patients infected with HCV. *Immunology.* 2004;20(3):331-333.

213. Dos Santos M. C., Campos M. I., Souza A. P., Scarel-Caminaga R. M., Mazzone R., Line S. R. Analysis of the transforming growth factor-beta 1 gene promoter polymorphisms in early osseointegrated implant failure. *Implant Dent.* 2004;13(3):262-269.
214. Drzewoski J., Sliwińska A., Przybyłowska K. et al. Gene polymorphisms and antigen levels of matrix metalloproteinase-1 in type 2 diabetes mellitus coexisting with coronary heart disease. *Kardiol Pol.* 2008;66(10):1042-1049.
215. Dubey R. K., Gupta D. K., Singh A. K. Dental implant survival in diabetic patients; review and recommendations. *Natl J Maxillofac Surg.* 2013;4:142-150.
216. Epstein S., Defeudis G., Manfrini S., Napoli N., Pozzilli P. Diabetes and disordered bone metabolism (diabetic osteodystrophy): time for recognition. *Osteoporos Int.* 2016;27:1931-1951.
217. Esposito M., Hirsch J. M., Lekholm U., Thompson P. Failure patterns of four osseointegrated oral implant systems. *J Mat Sci Mater Med.* 1997;8:843-847.
218. Farr J. N., Khosla S. Determinants of bone strength and quality in diabetes mellitus in human. *Bone.* 2016;82:28-34.
219. Farzad P., Andersson L., Nyberg J. Dental implant treatment in diabetic patients. *Implant Dent.* 2002;11:262-267.
220. Feinberg A. P. Epigenetics at the epicenter of modern medicine. *JAMA.* 2008;299:1345-1350.
221. Feller L., Kramer B., Lemmer J. A short account of metastatic bone disease. *Cancer Cell International.* 2011;11:24.
222. Fimonen P., Nisksnen M., Suominen-Taipale L. et al. Metabolic syndrome, periodontal infection and dental caries. *J. Dent. Res.* 2010;89(10):1068-1073.
223. Fiorellini J. P., Chen P. K., Nevins M., Nevins M. L. A retrospective study of dental implants in diabetic patients. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2000;20:366-373.

224. Froesch E. R., Zapf J. Insulin-like growth factors and insulin: Comparative aspects. *Diabetologia*. 1985;28(8):485–493.
225. Gabbay R., Moses A. IGF in the treatment of diabetes. In *Contemporary Endocrinology: The IGF System*. Humana Press. 1999;17:721-737.
226. Gerdhem P., Isaksson A., Akesson K. et al. Increased bone density and decreased bone turnover, but no evident alteration of fracture susceptibility in elderly women with diabetes mellitus. *Osteoporos Int*. 2005;16(12):1506-1512.
227. Gloudemans T., Pospiech I., Van der Ven L.T. et al. An *ava II* restriction fragment length polymorphism in the insulin-like growth factor II gene and the occurrence of smooth muscle tumors. *Cancer Res*. 1993; 53(23): 5754–5758.
228. Golub L.M., Lee H. M., Greenwald R. A. et al. A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis. *Inflamm Res*. 1997;46:310-319.
229. Gonzalez Y., Herrera M. T., Soldevila G., Garcia-Garcia L., Fabián G., et al. High glucose concentrations induce TNF- α production through the down-regulation of CD33 in primary human monocytes. *BMC*. 2012;13:1942.
230. Gooch H. L., Hale J. E., Fujioka H., Balian G., Hurwitz S. R. Alterations of cartilage and collagen expression during fracture healing in experimental diabetes. *Connect Tissue Res*. 2000;41:81-85.
231. Grant S. F., Reid D.M., Blake G. et al. Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type 1 alpha 1 gene. *Nat. Genet*. 1996;14(2):203-205.
232. Gross A. J., Paskett K.T., Cheever V.J., Lipsky M.S. Periodontitis: a global disease and the primary care provider's role. *Postgrad Med J*. 2017;93(1103):560-565.
233. Grundy S. M. Metabolic syndrome pandemic. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28(4):629-636.
234. Hamann C., Goettsch C., Mettelsiefen J., Henkenjohann V. et al. Delayed bone regeneration and low bone mass in a rat model of insulin-resistant

type 2 diabetes mellitus is due to impaired osteoblast function. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011;301:1220–1228.

235. Harrela M., Koistinen H., Kaprio J. et al. Genetic and environmental components of interindividual variation in circulating levels of IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, and IGFBP-3. *Journal of Clinical Investigation.* 1996;98(11):2612-2615.

236. He H., Liu R., Desta T., Leone C., Gerstenfeld L. C., Graves D. T. Diabetes causes decrease osteoclastogenesis, reduced bone formation and enhanced apoptosis of osteoblastic cells in bacteria stimulated bone loss. *Endocrinology.* 2004;145:447-452

237. Heald A. H., Stephens R. H., McElduff P. et al. Polymorphisms in insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) are associated with altered circulating IGF-I and lower mass index in type-2 diabetes mellitus. *Endo Abs.* 2006;11:413

238. Hernandez C. J., Tang S.Y., Baumbach B. M. et al. Trabecular microfracture and the influence of pyridinium and non-enzymatic glycation-mediated collagen cross-links. *Bone.* 2005;37(6):825–832.

239. Hernández M., Martínez B., Tejerina J. M., Valenzuela M. A., Gamonal J. MMP-13 and TIMP-1 determinations in progressive chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2007;34(9):729-735.

240. Hildebolt C. F. Osteoporosis and oral bone loss. *Dentomaxillofac Radiol* 1997;26(3):15.

241. Hobson E., Dean V., Grant S. F. A., Ralston S. H. Functional effects of a polymorphism of collagen (1) alpha 1 gene (COL1A1) in osteoporosis. *J. Med. Genet.* 1998;35:32.

242. Holliday L. S., Welgus H. G., Fliszar C. J., Veith G. M., Jeffrey J. J., Gluck S. L. Initiation of osteoclast bone resorption by interstitial collagenase. *J Biol Chem.* 1997;272:22053-22058.

243. Hong K. M., Belperio J. A., Keane M. P. et al. Differentiation of human circulating fibrocytes as mediated by transforming growth factor-beta and

peroxisomeproliferator activated receptor gamma. *J. Biol. Chem.* 2007;282:22910-22920.

244. Hopps E., Caimi G. Matrix metalloproteinases in metabolic syndrome // *Eur J Intern Med.* 2012;23(2): 99-104.

245. Hough F. S., Pierroz D. D., Cooper C., Ferrari S. L. Mechanisms in endocrinology: Mechanisms and evaluation of bone fragility in type 1 diabetes mellitus. *Eur. J. Endocrinol.* 2016;174(4):127-138. doi: 10.1530/EJE-15-0820

246. Iliopoulos D., Malizos K. N., Tsezou A. Epigenetic regulation of leptin affects MMP-13 expression in osteoarthritic chondrocytes: possible molecular target for osteoarthritis therapeutic intervention. *Annals of the rheumatic diseases.*2005;66(12):23-29.

247. Ingman T., Kononen M., Kontinen Y. T., Siirila H. S., Suomalainen K., Sorsa T. Collagenase, gelatinase and elastase activities in sul-cular fluid of osseointegrated implants and natural teeth. *J Clin Periodontol.* 1994;21:301-307.

248. International Osteoporosis Foundation. Fixed risk factors [Электронный ресурс]. - Access mode: <https://www.iofbonehealth.org/fixed-risk-factors>. - Title from the screen.— Date viewed: 29.07.2017

249. Isley W. L., Underwood L. E., Clemmons D. R. Dietary components that regulate serum somatomedin-C concentrations in humans. *J Clin Invest.* 1983; 71(2):175-182.

250. Jackuliak P., Payer J. Osteoporosis, fractures, and diabetes. *Int J Endocrinol.* 2014;2014:820615. doi: 10.1155/2014/820615

251. Janghorbani M., Van Dam R. M., Willett W. C. et al. Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. *Am J Epidemiol.* 2007;166(5):495-505. doi: 10.1093/aje/kwm106

252. Jeffcoat M. K. The association between osteoporosis and oral bone loss. *J. Periodontol.* 2005;76(11):2125-2132.

253. Jia H., Yu L., Gao B., Ji Q. Association between the T869C polymorphism of transforming growth factor-beta 1 and diabetic nephropathy: a meta-analysis. *Endocrine.* 2011;40(3):372-378.

254. Jianhai Wang, Xiuzhi Ren, Xue Bai, Tianke Zhang, Yi Wang, Keqiu Li, Guang Li. Identification of gene mutation in patients with osteogenesis imperfect using high resolution melting analysis. *Scientific Reports*. 2015;5:13468.

255. Kardeşler L., Biyikoğlu B., Cetinkalp S., Pitkala M., Sorsa T. et al. Crevicular fluid matrix metalloproteinase-8,-13, and TIMP1 levels in type 2 diabetics. *Oral. Dis*. 2010;16(5):476–481.

256. Kayal R. A., Tsatsas D., Bauer M. A., Allen B., Al-Sebaei M. O., Kakar S. et al. Diminished bone formation during diabetic fracture healing is related to the premature resorption of cartilages associated with increased osteoclast activity. *J Bone Miner Res*. 2007;22:560–563.

257. Kelly D. J., Zhang Y., Connelly K., Cox A. J., Martin J., Krum H. Tranilast attenuates diastolic dysfunction and structural injury in experimental diabetic cardiomyopathy. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2007;293:2860-2869.

258. Kemp A. D., Harding C. C., Cabral W. A., Marini J. C., Wallace J. M. Effects of tissue hydration on nanoscale structural morphology and mechanics of individual type I collagen fibrils in the *Brl* mouse model of Osteogenesis imperfecta. *J Struct Biol*. 2012;180:428-438.

259. Kesavan C., Wergedal J. E., Lau K. H. et al. Conditional disruption of IGF-I gene in type 1alpha collagen-expressing cells shows an essential role of IGF-I in skeletal anabolic response to loading. *Am J Physiol. Endocrinol. Metab*. 2011; 301:1191-1197.

260. Khaber Y., Khassawner B., Obeidat B. et al. Periodontal status of patients with metabolic syndrome compared to those without metabolic syndrome. *J. Periodontal*. 2008;79(1):2048-2053.

261. Khalil N. TGF- β : from latent to active. *Microbes Infect*. 1999;1(15):1255- 1263.

262. Kinney J. H., Marshall S. J., Marshall G. W. The mechanical properties of human dentin: a critical review and re-evaluation of the dental literature. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003;14:13-29.

263. Krakauer J.C., McKenna M. J., Buderer N. F. et al. Bone loss and bone turnover in diabetes. *Diabetes*. 1995;44(7):775-782.
264. Kwon S. Y., Lin T., Takei H., Ma Q., Wood D. J., O'Connor D. et al. Alterations in the adhesion behavior of osteoblasts by titanium particle loading: inhibition of cell function and gene expression. *Biorheology*. 2001;38(2-3):161-183.
265. Lander E. S., Linton L. M., Birren B. Initial sequencing and analysis of the human genome *Nature*. 2001;409:860-921.
266. Langdahl B. L., Carstens M., Stenkjaer L. et al. Polymorphisms in the transforming growth factor beta 1 gene and osteoporosis. *Bone*. 2003;32(3):297-310.
267. Lawrence D. A. Transforming growth factor beta: a general review. *Eur. Cytokine Netw*. 1996;7(3):363-374.
268. Leite M. F., Santos M. C., de Souza A. P., Line S. R. Osseointegrated implant failure associated with MMP-1 promotor polymorphisms (-1607 and -519). *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008;23(4):653-658.
269. Li Y., Kang Y. S., Dai C. et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is a potential pathway leading to podocyte dysfunction and proteinuria. *Am J Pathol*. 2008;172:299-308
270. Liao C. C., Lin C. S., Shih C. C. et al. Increased risk of fracture and postfracture adverse events in patients with diabetes: two nationwide population-based retrospective cohort studies. *Diabetes Care*. 2014;37:2246–2252. doi: 10.2337/dc13-2957
271. Lijnen P. J., Petrov V. V., Fagard R. H Collagen production in cardiac fibroblasts during inhibition of angiotensin–converting enzyme and aminopeptidases. *J. Hypertens*. 2004;22(1):209-216.
272. Lin C. P., Douglas W. H., Erlandsen S. L. Scanning electron microscopy of type I collagen at the dentin-enamel junction of human teeth. *J Histochem Cytochem*. 1993;41:381-388.

273. Liu M., Bian C., Zhang J. et al. Apolipoprotein E gene polymorphism and Alzheimer's disease in Chinese population: a meta-analysis. *Sci Rep.* 2014;4:4383.

274. Liu R., Bal H. S., Desta T., Behl Y., Graves D. T. Tumor necrosis factor alpha mediates enhanced apoptosis of matrix-producing cells and impairs diabetic healing. *Am J Pathol.* 2006;168:757–764.

275. Liu Y., Min D., Bolton T., Nubé V., Twigg S. M., Yue D. K. et al. Increased Matrix Metalloproteinase-9 Predicts Poor Wound Healing in Diabetic Foot Ulcers. *Diabetes Care.* 2009;32(1):117-119.

276. Livingstone C., Borai A. Insulin-like growth factor-II: its role in metabolic and endocrine disease. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2014;80:773-781.

277. Loe H. Periodontal disease: Sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1993;16:329-334.

278. Loo W. T., Jin L. J., Cheung M. N., Wang M. The impact of diabetes on the success of dental implants and periodontal healing. *Afr J Biotechnol.* 2009;8:5122-7.

279. Lu H., Kraut D., Gerstenfeld L. C., Graves D. T. Diabetes interferes with the bone formation by affecting the expression of transcription factors that regulate osteoblast differentiation. *Endocrinology.* 2003;144:346-352.

280. Lu L., Wang F., He L., Xue Y., Wang Y., Zhang H. et al. Interaction between IGF1 polymorphisms and the risk of acute lymphoblastic leukemia in Chinese children. *Cell Physiol Biochem.* 2015;36:1346-1358.

281. Lukaz Czupkalo. Bone metabolism and RANK/RANK/ORG trail in periodontal disease. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci.* 2016;29(3):171-175.

282. Ma J., Kitti U., Teronen O. et al. Collagenases in different categories of peri-implant vertical bone loss. *J Dent Res.* 2000;79:1870-1873.

283. Marhoffer W., Stein M., Maeser E., Federlin K. Impairment of polymorphonuclear leukocyte function and metabolic control of diabetes. *Diabetes Care.* 1992;15(2):256-260.

284. McCarthy T. L., Centrella M., Canalis E. Insulin-like growth factor (IGF) and bone. *Connect Tissue Res.* 1989;20:277-282.
285. Melton 3rd L. J., Leibson C. L., Achenbach S. J., Therneau T. M., Khosla S. Fracture risk in type 2 diabetes: update of a population-based study. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2008;23:1334-1342.
286. Mohan S. Insulin-like growth factor binding proteins in bone cell regulation. *Growth Regul.* 1993;3:67-70.
287. Moilanen M., Sorsa T., Stenman M., Nyberg P. Tumor-associated trypsinogen-2 (trypsinogen-2) activates procollagenases (MMP-1,-8,-13) and stromelysin-1 (MMP-3) and degrades type I collagen. *Biochemistry.* 2003;42(18):5414-5420.
288. Mona Aly Abbassy, Ippei Watari, Ahmed Samir Bakry et al. The Effect of Type 1 Diabetes Mellitus on the Dento Craniofacial Complex. *Type 1 Diabetes: A Guide for Children, Adolescents, Young Adults and Their Caregivers, Third Edition.* 2005;7:401-430.
289. Montagnani A., Gonnelli S., Alessandri M., Nuti R. Osteoporosis and risk of fracture in patients with diabetes: an update. *Aging Clinical and Experimental Research.* 2011;23(2):84–90. doi: 10.1007/BF03351073
290. Morris H. F., Ochi S., Winkler S. Implant survival in patients with type 2 diabetes: Placement to 36 months. *Ann Periodontol.* 2000;5:157–163.
291. Motyl K. J., McCabe L. R., Schwartz A. V. Bone and glucose metabolism: a two-way street. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2010;503(1):2–10. doi: 10.1016/j.abb.2010.07.030
292. Mou X., Liu Y., Zhou D., Hu Y., Ma G., Shou C. et al. Different risk indicators of diabetic nephropathy in transforming growth factor-beta1 T869C CC/CT genotype and TT genotype. *Iran J Public Health.* 2016;45(6):761–767.
293. Moy P. K., Mediana D., Shetty V., Aghloo T. L. Dental implant failure rates and associated factors. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20:569–577.

294. Na Y. K., Hong H. S., Lee W. K., Kim Y. H., Kim D. S. Increased methylation of interleukin 6 gene is associated with obesity in Korean women. *Mol Cells*. 2015;38(5):452-456.
295. Napoli N., Chandran M., Pierroz D. D. et al. Mechanisms of diabetes mellitus-induced bone fragility. *Nat. Rev. Endocrinol*. 2016;13(4):208-219. doi: 10.1038/nrendo.2016.153
296. Napoli N., Strollo R., Paladini A., Briganti S. I., Pozzilli P., Epstein S. The alliance of mesenchymal stem cells, bone, and diabetes. *Int J Endocrinol*. 2014:690783. doi:10.1155/2014/690783
297. Nelson D. A., Jacobson S. J. Why do older women with diabetes have an increased fracture risk? *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2001;86:29–31.
298. Nelson H. H., Marsit C. J., Kelsey K. T. Global methylation in exposure biology and translational medical science. *Environ Health Perspect*. 2011;119:1528-1533.
299. Nile C. J., Read R. C., Akil M., Duff G. W., Wilson A. G. Methylation status of a single CpG site in the IL-6 promoter is related to IL-6 messenger RNA levels and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2008;58(9):2686-2693.
300. Nimni M. E., Bernick S., Cheung D. T., Ertl D. C., Nishimoto S. K., Paule W. J., Salka C., Strates B. S. Biochemical differences between dystrophic calcification of cross-linked collagen implants and mineralization during bone induction. *Calcif Tissue*. 1988;42:313-320.
301. Oates T.W., Dowell S., Robinson M., McMahan C. A. Glycemic control and implant stabilization in type 2 diabetes mellitus. *J Dent Res*. 2009;88(4):367–371.
302. Oates T.W., Galloway P., Alexander P., Vargas Green A., Huynh-Ba G., Feine J. et al. The effects of elevated hemoglobin A(1c) in patients with type 2 diabetes mellitus on dental implants: survival and stability at one year. *J Am Dent Assoc*. 2014;145(12):1218–1226.

303. Ochiai H., Okada S., Saito A. et al. Inhibition of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) expression by prolonged transforming growth factor-1 (TGF-1) administration suppresses osteoblast differentiation. *J Biol Chem.* 2012;287(27):22654-22661,

304. Oei L., Zillikens M. C., Dehghan A., Buitendijk G. H. et al. High bone mineral density and fracture risk in type 2 diabetes as skeletal complications of inadequate glucose control: the Rotterdam Study. *Diabetes Care.* 2013;36(6):1619-1628.

305. Olson J. W., Shernoff A. F., Tarlow J. L., Colwell J. A., Scheetz J. P., Bingham S. F. Dental endosseous implant assessments in a type 2 diabetic population: a prospective study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000;15:811-818.

306. Orgel, J. P., Wess T. J., Miller A. The in situ conformation and axial location of the intermolecular cross-linked non-helical telopeptides of type I collagen. *Structure.* 2000;8:137– 142.

307. Paneni F, Beckman JA, Creager MA, Cosentino F. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *Eur Heart J.* 2013 Aug;34(31):2436-43

308. Pavya G., Babu N. A. Effect of Diabetes in Osseointegration of Dental Implant - A Review. *Biomed Pharmacol J.* 2015;8:353-358.

309. Pearson T. Markers of inflammation and cardiovascular disease. *Circulation.* 2003;107:499-511.

310. Peled M., Ardekian L., Tagger-Green N., Gutmacher Z., Matchei E. F. Dental implants in patients with type 2 diabetes mellitus: a clinical study. *Implant Dent.* 2003;12:116-122.

311. Pietruski J. K., Pietruska M. D., Stokowska W., Pattarelli G. M. Evaluation of polypeptide growth factors in the process of dental implant osseointegration. *Rocz Akad Med Bialymst.* 2001;46:19-27.

312. Prockop D. J., Kivirikko K. I. Collagens: Molecular biology, diseases, and potentials for therapy. *Annu Rev Biochem.* 1995;64:403-434.

313. Randhawa R., Cohen P. The role of the insulin-like growth factor system in prenatal growth. *Mol Genet Metab.* 2005;86:84-90.
314. Reddy G. K., Stehno-Bittel L., Hamade S., Enwemeka C. S. The biomechanical integrity of bone in experimental diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 2001;54(1):1-8. doi: 10.1016/S0168-8227(01)00273-X.
315. Reijnders C. M., Bravenboer N., Tromp A. M. et al. Effect of mechanical loading on insulin-like growth factor-I gene expression in rat tibia. *J Endocrinol.* 2007;192:131-140.
316. Reva G. V., Tolmachev V. E., Pervov Y. Y., Rusakova E. Y., Reva I. V., Usov V. V. et al. An experience of dental implantation in patients with parodontal inflammatory diseases with local immune homeostasis control. *Fundamental Researches.* 2013;5(1):129-134.
317. Richards A. J., Baguley D. M., Yates J. R., Lane C., Nicol M., Harper P. S., Scott J. D., Snead M. P. Variation in the vitreous phenotype of Stickler syndrome can be caused by different amino acid substitutions in the X position of the type II collagen Gly-X-Y triple helix. *Am J Hum Genet.* 2000;67:1083-1094.
318. Robey P. G., Boskey A. L. The composition of bone. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism.* Am. Soc. Bone Miner. Res. Washington, DC: 2008. pp. 32–38
319. Rodrigues K. F., Pietrani N. T., Sandrim V. C., Vieira C. M., Fernandes A. P., Bosco A. A. et al. Association of a large panel of cytokine gene polymorphisms with complications and comorbidities in type 2 diabetes patients. *J Diabetes Res.* 2015;2015:605965.
320. Ryan E., Carnu O., Kamer A., Reddy S. S., Kripal K. The influence of diabetes on the periodontal tissues. *Diabetes mellitus as a risk Factor for periodontitis.* *EC Dental Science.* 2017;1(2):12-24.
321. Saito M., Marumo K. Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. *Osteoporosis International.* 2009;21(2):195-214. doi: 10.1007/s00198-009-1066-z

322. Sanches C. P., Vianna A. G. D., Barreto F. de C. The impact of type 2 diabetes on bone metabolism *Diabetol Metab Syndr.* 2017;9:85. doi: 10.1186/s13098-017-02

323. Santana R. B., Xu L., Babakhanlou C., Amar S., Graves D. T. A role for advanced glycation end products in diminished bone healing in type 1 Diabetes. *Diabetes.* 2003;52:150-210.

324. Santos M. C., Campos M. I., Souza A. P., Scarel-Caminaga R. M., Mazzone R., Line S. R. Analysis of the transforming growth factor-beta 1 gene promoter polymorphisms in early osseointegrated implant failure. *Implant Dent.* 2004;13(3):262-9

325. Santos M. C., Campos M. I., Souza A. P., Trevilatto P. C., Line S. R. Analysis of MMP-1 and MMP-9 promoter polymorphisms in early osseointegrated implant failure. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004;19(1):38-43.

326. Sarathchandra P., Kayser M. V., Ali S. Y. Abnormal mineral composition of osteogenesis imperfecta bone as determined by electron probe X-ray microanalysis on conventional and cryosections. *Calcif Tissue Int.* 1999;65:11-15.

327. Sattari M., Fathiyeh A., Gholami F., Darbandi Tamijani H., Ghatreh Samani M. Effect of Surgical Flap on IL-1beta and TGF-beta Concentrations in the Gingival Crevicular Fluid of Patients with Moderate to Severe Chronic Periodontitis. *Iran J Immunol.* 2011;8(1):20-26.

328. Scariot R., Correa Cavalcante R., Gerber J. T., Sebastiani A. M. et al. COL2A1 Gene is Associated with Dentofacial Deformities Phenotypes *The FASEB Journal* 2019 33:1_supplement, 452.27-452.27

329. Sharples A. P., Hughes D. C., Deane C. S., Saini A., Selman C., Stewart C. E. Longevity and skeletal muscle mass: the role of IGF signalling, the sirtuins, dietary restriction and protein intake. *Aging Cell.* 2015;14:511-523.

330. Sheng M. H., Lau K. H., Baylink D. J. Role of Osteocytederived Insulin-Like Growth Factor I in Developmental Growth, Modeling, Remodeling, and Regeneration of the Bone. *J Bone Metab.* 2014;21(1):41-54.

331. Shernoff A. F., Colwell J. A., Bingham S. F. Implants for type II diabetic patients: Interim report. VA Implants in Diabetes Study Group. *Implant Dent.* 1994;3:183-185.
332. Shilin H. E.; Peng X. U. Shi B. A. I. The relationship between MMP-1 genetic polymorphisms and dental implant early failure in Chinese Han nationality Chongqing Medicine. 2017;46(5):635-637.
333. Shimazaki Y., Saito T., Yonemoto K., Kiyohara Y., Iida M., Yamashita Y. Relationship of metabolic syndrome to periodontal disease in Japanese women: the Hisayama study. *J. Dent. Res.* 2007;863:271-275.
334. Siefert S. A., Sarkar R. Matrix metalloproteinases in vascular physiology and disease. *Vascular.* 2012;20(4):210-216.
335. Simental-Mendia M., Lara-Arias J., Alvarez-Lozano E., Said-Fernandez S., Soto-Dominguez A., Padilla-Rivas G. R., Martinez-Rodriguez H. G. Co-transfected human chondrocytes: over-expression of IGF-I and SOX9 enhances the synthesis of cartilage matrix components collagen-II and glycosaminoglycans. *Braz J Med Biol Res.* 2015;48:1063-1070.
336. Singh R., Barden A., Mori T., Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia.* 2001;44(2):129-146. doi: 10.1007/s001250051591
337. Smolen J. S., Maini R. N. Interleukin-6: a new therapeutic target. *Arthritis Res. Ther.* 2006;8:407.
338. Sobey G. Ehlers–Danlos syndrome: how to diagnose and when to perform genetic tests. *Archives of Disease in Childhood.* 2015;100:57-61.
339. Sonost 2000, User's manual // Strumentazione Medica [Электронный ресурс]. – 2017. – Режим доступа: http://www.strumedical.com/admin/allegati/126-Sonost_2000%20%20manuale%20pdf.pdf – Дата доступа: 10.02.2017.
340. Spravchikov N., Sizyakov G., Gartsbein M., Accili D., Tennenbaum T., Wertheimer E. Glucose effects on skin keratinocytes: implications for diabetes skin complications. *Diabetes.* 2001;50(7):1627-1635.

341. Sreenivasan P. K., Vered Y., Zini A. et al. 6-Місячне дослідження оцінки впливу засобу для чищення зубів із вмістом 0,3 % триклозану/сополімеру на зубні імпланти. *Современная стоматология*. 2012;4:58-59.

342. Starup-Linde J., Frost M., Vestergaard P., Abrahamsen B. Epidemiology of fractures in diabetes. *Calcified Tissue International*. 2016;100(2):109-121. doi: 10.1007/s00223-016-0175-x

343. Starup-Linde J., Lykkeboe S., Gregersen S., et al. Differences in biochemical bone markers by diabetes type and the impact of glucose. *Bone*. 2016;83:149-155. doi: 10.1016/j.bone.2015.11.004

344. Starup-Linde J., Vestergaard P. Biochemical bone turnover markers in diabetes mellitus - a systematic review. *Bone*. 2016;82:69–78. doi: 10.1016/j.bone.2015.02.019

345. Steven R. Cummings Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *The Lancet*. 2002;359(9319):1761–1767.

346. Strollo R., Rizzo P., Spoletini M., Landy R. et al. HLA-dependent autoantibodies against post-translationally modified collagen type II in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2013;56(3):563-572. doi: 10.1007/s00125-012-2780-1.

347. Suzuki K., Kurose T., Takizawa M. et al. Osteoclastic function is accelerated in male patients with type 2 diabetes mellitus: the preventive role of osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin (OCIF/OPG) on the decrease of bone mineral density. *Diabetes Res Clin Pract* 2005;68(2):117-125.

348. Tahimic C. G. T., Wang Y., Bikle D. D. Anabolic effects of IGF-1 signaling on the skeleton. *Front. Endocrin.* 2013;4:6. doi: 10.3389/fendo.2013.00006

349. Takahashi I., Nishimura M., Onodera K. et al. Expression of MMP-8 and MMP-13 genes in the periodontal ligament during tooth movement in rats. *J Dent Res*. 2003;82(8):646-651.

350. Tan S. D., Xie R., Klein-Nulend J. et al. Orthodontic force stimulates eNOS and iNOS in rat osteocytes. *Journal of Dental Research*. 2009;88(3):255-260.
351. Tanaka K., Yamaguchi T., Kaji H. et al. Advanced glycation end products suppress osteoblastic differentiation of stromal cells by activation endoplasmic reticulum stress. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013;438(3):463-467.
352. Taylor G. W., Burt B. A., Becker M. P. et al. Glycemic control and alveolar bone loss progression in type 2 diabetes. *Ann Periodontol*. 1998;3(1):30-39.
353. Taylor G. W., Burt B. A., Becker M. P. et al. Non-insulin dependent diabetes mellitus and alveolar bone loss progression over 2 years. *J Periodontol* 1998;69(1):76-83.
354. Thathapudi S. et al. Association of insulin-like growth factor 2 Apa1 A820G gene (rs680) polymorphism with polycystic ovarian syndrome. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol*. 2016;5(8):2618-2623.
355. Tsourdi E., Barthel A., Rietzsch H., Reichel A., Bornstein S. R. Current Aspects in the Pathophysiology and Treatment of Chronic Wounds in Diabetes Mellitus. *Biomed. Res. Intern*. 2013;6:385641.
356. Turcot, V., Tchernof, A., Deshaies, Y. LINE1 methylation in visceral adipose tissue of severely obese individuals is associated with metabolic syndrome status and related phenotypes. *Clinical epigenetics*. 2012;4(1):10.
357. Turkyilmaz I. One-year clinical outcome of dental implants placed in patients with type 2 diabetes mellitus: a case series. *Implant Dent*. 2010;19(4):323-329.
358. Underwood L. E., Thissen J. P., Lemozy S., Ketelslegers J. M., Clemmons D. R. Hormonal and nutritional regulation of IGF-I and its binding proteins. *Horm Res*. 1994;42(4-5):145-151.
359. Vafiadis P., Bennett S. T., Todd J. A., Grabs R., Polychronakos C. Divergence between genetic determinants of IGF2 transcription levels in leukocytes and of IDDM2-encoded susceptibility to type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(8):2933-2939.

360. Valero A. M., Ferrer García J. C., Ballester A. H. et al. Effects of diabetes on the osseointegration of dental implants. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2007 Jan 1;12(1):38-43.
361. Varewijck A. J., Janssen J. A. Insulin and its analogues and their affinities for the IGF1 receptor. *Endocr Relat Cancer*. 2012;19:63-75.
362. Vincenti M. P., White L. A., Schroen D. J., Benbow U., Brinckerhoff C. E. Regulating expression of the gene for matrix metalloproteinase-1 (collagenase): Mechanisms that control enzyme activity, transcription, and mRNA stability. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 1996;6:391-411.
363. Visse R., Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation Res*. 2003;2:827-839.
364. Walsh P. S., Metzger D. A., Higuchi R. Chelex 100 as a Medium for Simple Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material. *BioTechniques*. 2013;54(3):134-139.
365. Wang Y. J., Shi Q., Sun P. et al. Insulin-like growth factor-1 treatment prevents anti-Fas antibody-induced apoptosis in endplate chondrocytes. *Spine*. 2006;31(7):736-741.
366. Watanabe Y., Kinoshita A., Yamada T., Ohta T. et al. A catalog of 106 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) and 11 other types of variations in genes for transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and its signaling pathway. *J Hum Genet*. 2002;47:478-483.
367. Wu Y., Cui W., Zhang D., Wu W., Yang Z. The shortening of leukocyte telomere length relates to DNA hypermethylation of LINE1 in type 2 diabetes mellitus. *Oncotarget*. 2017;8:73964-73.
368. Xiaohong Duan, Zhenxia Liu, Yunna Gan, Dan Xia et al. Mutations in COL1A1 Gene Change Dentin Nanostructure. *The anatomical record*. 2016;299:511-519.

369. Xie J., Mendez J. D., Mendez-Valenzuela V., Aguilar-Hernandez M. M. Cellular signalling of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) Cellular Signalling. 2013;25(11):2185–2197. doi: 10.1016/j.cellsig.2013.06.013
370. Xue F., Rabie B., Luo G. Analysis of the association of COL2A1 and IGF-1 with mandibular prognathism in a Chinese population. *Orthodontics & Craniofacial Research*. 2014;17(3):144-149.
371. Yaffe A., Izkovich M., Earon Y. et al. Local delivery of an amino bisphosphonate prevents the resorptive phase of alveolar bone following mucoperiosteal flap surgery in rats. *J Periodontol*. 1997;68(9):884-889.
372. Yamada Y., Ando F., Niino N., Shimokata H. Association of a polymorphism of the matrix metalloproteinase-1 gene with bonemineral density. *Matrix Biology*. 2002;21:389-392
373. Yamaguchi T., Sugimoto T. Bone metabolism and fracture risk in type 2 diabetes mellitus [review] *Endocrine Journal*. 2011;58(8):613-624. doi: 10.1507/endocrj.EJ11-0063
374. Yingshui Yaoa, Hui Zhua. A comprehensive contribution of genetic variations of the insulin-like growth factor 1 signalling pathway to stroke susceptibility. *Atherosclerosis*. 2020;296:59-65.
375. Ying-Ying Wu, Xiao E., Graves D. T. Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease. *International Journal of Oral Science*. 2015;7:63-72.
376. Yoshitake F., Itoh S., Narita H., Ishihara K. Interleukin-6 directly inhibits osteoclast differentiation by suppressing receptor activator of NF-kappaB signaling pathways. *J Biol Chem*. 2008;283(17):11535-40.
377. Yu Y. M., Sklar M. M., Nissley S. P., Reddi A. H. Changes in the expression of insulin-like growth factor II/mannose6-phosphate receptor during endochondral bone development. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993;195:516-524.

378. Zhang F., Finkelstein J. The relationship between single nucleotide polymorphisms and dental implant loss: a scoping review. *Clin Cosmet Investig Dent.* 2019;11:131-141. doi: 10.2147/CCIDE.S207445. eCollection 2019.

379. Zhang L., Yi H., Xia X.P., Zhao Y. Transforming growth factor-beta: an important role in CD4+CD25+ regulatory T cells and immune tolerance. *Autoimmunity.* 2006;39(4): 269-276.

380. Zhu S., Wang Z., Shen W., Heymsfield S. B., Heshka S. Percentage body fat ranges associated with metabolic syndrome risk: results based on the third National Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994). *Am. J. Clin. Nutr.* 2003;78(2):228-235.

ДОДАТОК А

1. Рожко П. Д. Клиническая эффективность лечебно-профилактических мероприятий сопровождения ортопедического лечения пациентов с сахарным диабетом / П. Д. Рожко // Colloquium journal. – 2020. – № 29 (81). – С. 28-32.
2. Рожко П. Д. Ортопедическое лечение пациентов с сахарным диабетом / П. Д. Рожко // Colloquium journal. – 2020. – № 27 (79). – С. 43-50.
3. Демьяненко С. А. Состояние пародонта у крыс после имплантологической операции на фоне сахарного диабета 2 типа / С. А. Демьяненко, М. Г. Дробязко, П. Д. Рожко // Российский стоматологический журнал. – 2017. – Т.21. – №6. – С. 313-316. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*
4. Демьяненко С. А. Пародонтопротекторное действие комплекса антибиотических средств при экспериментальной имплантологии на фоне сахарного диабета / С. А. Демьяненко, м. Г. Дробязко, П. Д. Рожко [и др.] // Российский вестник дентальной имплантологии. – 2018. – №3-4. – С. 21-25. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*
5. Деньга А. Э. Минерализационные процессы в костной ткани крыс при экспериментальном моделировании метаболического синдрома и ортодонтического перемещения зубов / А. Э. Деньга, П. Д. Рожко, О. А. Макаренко // Вестник стоматологии. – 2019. – Т.31. – №1. – С. 11-14. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*
6. Деньга А. Э. Влияние витаминно-минерального комплекса «магний активный» на состояние крови и тканей пародонта крыс в условиях моделирования метаболического синдрома / А. Э. Деньга, П. Д. Рожко, С. А. Шнайдер // Вісник морської медицини. – 2019. – №1. – С. 57-64. *Участь*

здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.

7. Деньга А. Э. Оценка нарушений в генетических маркерах, связанных с костным метаболизмом у пациентов с зубочелюстными аномалиями на фоне метаболического синдрома / А. Э. Деньга, Т. Г. Вербицкая, П. Д. Рожко // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2020. – №1 (59). – С. 59-64. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

8. Рожко П. Д. Исследование полиморфизма генов COL1A1-1997G/T, MMP1-1607INSG, MMP9 A-8202G, TIMP1C536T у пациентов с сахарным диабетом 2 типа, направленных на дентальную имплантацию / П. Д. Рожко, О. В. Деньга, Т. Г. Вербицкая // Colloquium journal. – 2020. – №19 (71). – С. 27-30. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

9. Рожко П. Д. Изучение полиморфизма генов трансформирующего фактора роста TGF- β 1 T869C и инсулиновых факторов роста IGF-1 1245G/A, IGF-2 3323 G/A у пациентов с сахарным диабетом 2 типа при дентальной имплантации / П. Д. Рожко, О. В. Деньга, Т. Г. Вербицкая, С. А. Шнайдер // Colloquium journal. – 2020. – №30 (82). – С. 63-67. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

10. Рожко П. Д. Метилирование промоторов генов IL-6 и MMP13 у пациентов с метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2 типа при хроническом пародонтите / П. Д. Рожко, О. В. Деньга, Т. Г. Вербицкая, С. А. Шнайдер // Інновації в стоматології. – 2019. – №2. – С. 59-66. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

11. Рожко П. Д. Биохимические показатели сыворотки крови крыс при моделировании сахарного диабета 2 типа, установке имплантатов и проведении лечебно-профилактических мероприятий / П. Д. Рожко, О. В. Деньга, О.А. Макаренко // Colloquium journal. – 2020. – №22 (74). – С. 54-58.

Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.

12. Рожко П. Д. Влияние моделирования сахарного диабета 2 типа и фиксации имплантатов на биохимические показатели тканей пародонта крыс / П. Д. Рожко, О. В. Деньга, О.А. Макаренко, С. А. Шнайдер // Вісник стоматології. – 2020. – №2. – С. 22-26. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

13. Рожко П. Д. Биохимические показатели воспаления и антиоксидантной защиты в ротовой жидкости пациентов с сахарным диабетом 2 типа в процессе комплексного ортопедического лечения / П. Д. Рожко, О. В. Деньга, О.А. Макаренко // Colloquium journal. – 2020. – №24 (76). – С. 26-30. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

14. Рожко П. Д. Состояние микробиоценоза в полости рта пациентов с сахарным диабетом 2 типа при комплексном ортопедическом лечении / П. Д. Рожко, О. В. Деньга, О.А. Макаренко // Norwegian Journal of development of the International Science. – 2020. – Vol. 1. – № 46. – Р. 31-34. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

15. Рожко П. Д. Метаболические процессы в организме у пациентов с сахарным диабетом в процессе ортопедического лечения // П. Д. Рожко, О. В. Деньга, С. А. Шнайдер, О. А. Макаренко // EESJ. – 2020. – № 8 (60). – С. 18-21. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

16. Рожко П. Д. Биофизические показатели тканей пародонта у пациентов с сахарным диабетом в процессе комплексного ортопедического лечения / П. Д. Рожко, Э. М. Деньга // Вісник стоматології. – 2020. – № 3. – С. 60-64. *Участь здобувача полягає у проведенні клінічних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

17. Рожко П. Д. Патологические изменения в слизистой оболочке и сосудах микроциркуляторного русла полости рта крыс при моделировании сахарного диабета / П. Д. Рожко, В. В. Гаргин // Journal of Education, Health and Sport. – 2020. – № 10 (7). – С. 438-444. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

18. Рожко П. Д. Морфологические изменения в полости рта крыс при моделировании сахарного диабета и установки имплантатов / П. Д. Рожко, В. В. Гаргин // Colloquium journal. – 2020. – №31(83). – С. 71-76. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

19. Рожко П. Д. Эффективность лечебно-профилактических мероприятий при моделировании у крыс сахарного диабета и установки имплантатов / П. Д. Рожко, В. В. Гаргин // Colloquium journal. – 2020. – № 28 (80). – С. 33-37. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

20. Рожко П. Д. Показатели качества кости и жировой массы тела у пациентов с сахарным диабетом 2 типа в процессе ортопедического лечения / П. Д. Рожко, Э. М. Деньга // Norwegian Journal of development of the International Science. – 2020. - № 49 (1). – С. 18-22. *Участь здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих даних, написанні статті.*

21. Рожко П. Д. Антиоксидантная и антимикробная активность ротовой жидкости пациентов с сахарным диабетом в процессе комплексного ортопедического лечения / П. Д. Рожко // Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя : міжнародна наук.-практ. конференція., Київ, 2-3 жовтня 2020 р. : тези допов. – Київ, 2020. – 63-66.

22. Рожко П. Д. Влияние лечебно-профилактических мероприятий на показатели микробиоценоза полости рта у пациентов с сахарным диабетом 2 типа в процессе ортопедического лечения / П. Д. Рожко // Вітчизняна та світова

медицина: вимоги сьогодення : міжнародна наук.-практ. конференція., Дніпро, 9-10 жовтня 2020 р. : тези допов. – Київ, 2020. – 48-51.

23. Рожко П. Д. Состояние тканей пародонта у пациентов с сахарным диабетом при комплексном ортопедическом лечении / П. Д. Рожко // Медичні та фармацевтичні науки: історія, сучасний стан та перспективи досліджень : міжнародна наук.-практ. конференція., Одеса, 16-17 жовтня 2020 р. : тези допов. – Одеса, 2020. – 54-59.

24. Рожко П. Д. генетическая предрасположенность к стабильности зубных имплантатов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа / П. Д. Рожко // Актуальні питання сучасної медицини: наукові дискусії : міжнародна наук.-практ. конференція., Львів, 23-24 жовтня 2020 р. : тези допов. – Львів, 2020. – 36-40.