

Міністерство охорони здоров'я України
Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

БІГУЛЯК ГАЛИНА ТЕОДОРІВНА

УДК: 616.314.17-008.1-085.361:611-018.53-092.9

ДИСЕРТАЦІЯ
ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ
СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ІМУННИХ
ПОРУШЕНЬ ПРИ ПАРОДОНТИТІ

221 «Стоматологія»

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

_____ Бігуляк Г.Т.

Науковий керівник: Кліщ Іван Миколайович, доктор біологічних наук,
професор.

Тернопіль – 2022

АНОТАЦІЯ

Бігуляк Г.Т. Патогенетичне обґрунтування застосування стовбурових клітин для корекції імунних порушень при пародонтиті. – Кваліфікаційна наукова робота на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 221 «Стоматологія» (22 «Охорона здоров'я»). – Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2022.

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2022.

У дисертації наведено особливості патологічних змін у тканині пародонта та організмі щурів за моделювання гострого генералізованого пародонтиту та обґрунтовано доцільність використання мезенхімальних стовбурових клітин для їх корекції.

Дослідження проводили на 132-ох білих безпородних щурах-самцях масою тіла 180-200 г. Тварини знаходилися на повноцінному раціоні віварію з вільним доступом до води. Ефективність корекції з використанням стовбурових клітин вивчали на моделі пародонтиту, викликаного введенням ліпополісахариду (ЛПС) в тканини ясен по 40 мікролітрів (1мг/мл) через день протягом 14-ти діб. Через 1-шу, 7-му, 1ту і 21-шу доби після останнього введення ЛПС щурів декапітували під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Тварин розподілили на 4 групи: I – тварини без змодельованої патології (інтактні); II – тварини із змодельованим гострим пародонтитом; III – тварини з пародонтитом, яким проводили корекцію з використанням мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) людини, IV – тварини з пародонтитом, яким проводили корекцію із використанням міогенних стовбурових клітин щура.

Ефективність корекції із використанням міогенних стовбурових клітин щура вивчали на тій же моделі пародонтиту з використанням гістологічних методик. Декапітацію у цій серії проводили через на 7-му і 21-шу доби після останнього уведення ЛПС щурам. Контролем служив матеріал від тварин, яким патологічний процес не моделювали.

За результатами проведеного дослідження встановлено, що запальний процес у пародонті супроводжувався розвитком оксидативного стресу, що характеризується збільшенням інтенсивності продукування активних форм кисню на 1-шу добу гострого пародонтиту та з подальшим зниженням до 21 доби. За умов уведення МСК, продукування АФК знижувалось відносно рівня тварин, яким корекції не проводили. Аналогічна тенденція спостерігалась і стосовно початкових і проміжних продуктів ліпопероксидації, вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові, динаміки кінцевого продукту ліпопероксидного ланцюга – основ Шиффа (ШО). При застосуванні МСК, як коригуючого засобу, дані показники знижувалися відносно тварин без змодельованої патології і достовірно відрізнялись від аналогічних показників тварин з пародонтитом без корекції у відповідні терміни спостереження.

Поряд із зростанням процесів ліпідної пероксидації, відбувалося підвищення інтенсивності окиснювальної модифікації білків, причому це стосувалося обох їх фракцій – $ОМБ_{370}$ і $ОМБ_{430}$. У тварин з пародонтитом мало місце достовірне зростання даних показників на початкових етапах спостереження з подальшим зниженням до 21-ої доби (124,5 % від норми). За корекції МСК рівні $ОМБ_{370}$ і $ОМБ_{430}$ достовірно не відрізнялися від показника тварин без змодельованої патології до кінця експерименту.

Позаяк активність вільнорадикальних процесів залежить не тільки від інтенсивності продукування активних форм кисню, а й від їх здатності започатковувати ланцюги ліпопероксидації чи окислювальної модифікації білків, нами було досліджено стан ферментної і неферментної ланок

антиоксидантної системи, яка, власне, і протидіє розгалуженню цих вільнорадикальних ланцюгів.

Встановлено, що супероксиддисмутазна та каталазна активність на 1-шу добу спостереження незначно підвищувалися з подальшим зниженням до 21-шої доби. Уведення МСК мало значний вплив на дані показники. Зокрема, на 1-шу добу зростання активності супероксиддисмутази (СОД) і каталази було менш виразним, ніж у тварин без корекції. У подальші терміни спостереження дані показники достовірно зростали як відносно здорових тварин, так і тих, яким не проводили корекції.

Отже, введення МСК супроводжується не тільки сповільненням продукування АФО і активності процесів ліпопероксидації, а й зміною активності антиоксидантних ферментів І лінії захисту – СОД і каталази.

Суттєвих змін зазнавали ще показники, які є основними антиоксидантами сироватки крові – церулоплазмін та загальна антиоксидантна активність плазми крові (ЗААП). Відмічено незначне зростання даних показників на першу добу після моделювання пародонтиту з подальшим зниженням до 14-ої доби і деяким підвищенням на 21-шу добу. Застосування МСК супроводжувалось менш виразним, ніж у групі тварин без корекції, зростанням церулоплазміну та ЗААП на 1-шу добу з подальшою нормалізацією до 21-ої доби.

Важливе значення у захисті від надмірної кількості вільнорадикальних продуктів відіграє глутатіонова система. Основним компонентом цієї системи є відновлений глутатіон, який, за рахунок сульфгідрильних груп здатен нейтралізувати вільнорадикальні продукти. У тварин із змодельованим гострим пародонтитом зафіксовано достовірне зниження концентрації відновленого глутатіону в усі терміни спостереження. Це вказує на витрачання відновлюваних еквівалентів з метою зменшення накопичення вільнорадикальних сполук. Ензимом, який забезпечує цей процес, є глутатіонпероксидаза. На початкових етапах патологічного процесу

пероксидазна активність достовірно зростала і на 1-шу добу спостереження склала 113,7 % від рівня здорових тварин. У подальшому ми спостерігали зниження глутатіонпероксидазної активності і на 21-шу добу цей показник становив 81,8 %, що може свідчити про виснаження ензимного потенціалу. Застосування МСК супроводжувалось нормалізацією глутатіонпероксидазної активності. Ще одним важливим ензимом, що забезпечує відновлення сульфгідрильних труп є глутатіонредуктаза. Проведені нами дослідження вказують на достовірне зниження глутатіонредуктазної активності у тварин, яким моделювали гострий пародонтит. За корекції МСК зниження ензимної активності було менш виразним, ніж у тварин, яким корекцію не проводили.

Отже, моделювання гострого пародонтиту спричинилося до зростання факторів антиоксидного захисту на ранньому етапі патологічного процесу з подальшим виснаженням антиоксидантних резервів, що може призвести до надмірного зростання активності вільнорадикальних процесів та ушкодження тканин пародонта. Корекція із застосуванням МСК мала позитивний ефект, згладжуючи зміни, що виникали.

Встановлено, що застосування МСК впливає на функціональний стан нейтрофілів і активність у них оксигензалежних процесів. Запальний процес, що перебігає у пародонті щурів за умов корекції характеризується нижчими показниками сНСТ-тесту та іНСТ-тесту порівняно із тваринами, яким корекцію не проводили. Зниження метаболічних і оксидативних процесів в осередку ушкодження супроводжується зниженням активності оксидативних процесів, що зумовлює зменшення інтенсивності пошкодження тканин у щурів з гострим пародонтитом. У тварин з гострим пародонтитом виявляється достовірне зростання CD4+-лімфоцитів, порушення співвідношення основних субпопуляцій лімфоцитів (CD4+ і CD8+), що супроводжується достовірним зростанням імунорегуляторного індекса, а також порушенням функціональності гуморальної ланки імунної системи, що

проявляється дисбалансом імуноглобулінів в кров'яному руслі та зниженням резистентності гуморальної ланки імунної системи.

Застосування МСК суттєво вирівнює спричинений патологічним процесом дисбаланс імунної системи, сприяючи нормалізації імунорегуляторного індексу та основних класів імуноглобулінів.

Як відомо, специфічною особливістю запалення є здатність тканин із зони запалення до секреції медіаторів запалення, зокрема, IL1- β , TNF- α та IL-6, які є хемотактичними агентами для нейтрофілів та інших імунокомпетентних клітин, внаслідок чого лейкоцити мігрують до пошкодженої ділянки та зумовлюють розвиток запалення. Патогенетично слід відмітити гіперпродукцію активних форм оксисену нейтрофілами та активацію процесів вільнорадикального окиснення у локусі запалення, що є типовим патологічним процесом та ключовим пошкоджуючим чинником.

Застосування стовбурових клітин з метою корекції експериментального пародонтиту супроводжувалось зменшенням концентрації прозапальних цитокінів сироватки крові, що посилено продукуються при запальному процесі у відповідь на ушкодження тканин пародонта у всі терміни спостереження, та гіперпродукцією протизапального IL-10, який може пригнічувати вироблення TNF- α та послаблювати його негативні ефекти. Стовбурові клітини містять низку активних факторів, що можуть діяти як носій щодо клітин, які важливі для регенерації м'яких тканин пародонта і кісткової тканини.

Анал показників протеолітичної активності сироватки крові у щурів, яким моделювали гострий пародонтит, засвідчив, що протягом усього експерименту вони були достовірно вищими, ніж у тварин, яким патологічний процес не моделювали. Застосування МСК сповільнює активність процесів протеолізу на початкових етапах патологічного процесу, що може мати суттєве значення для пришвидшення процесів регенерації

тканин пародонта, ушкоджених внаслідок моделювання патологічного процесу.

При експериментальному відтворенні гострого пародонтиту мають місце деструктивні зміни епітелію та сполучнотканинної стромы, порушення кровообігу, спостерігається запальна реакція в тканині ясен.

Застосування методів корекції з використанням мезенхімальних стовбурових клітин людини, а також м'язових стовбурових клітин щура мало позитивний вплив на перебіг модельованого патологічного процесу: поступово редукувалися ті морфологічні зміни, які були характерними для пародонтиту, відновлювалося нормальне кровопостачання тканин, поступово спадав набряк тканин, зменшувалися і поступово зникали поля поліморфноклітинної інфільтрації. За рахунок остеобластів відновлювалася структура кістки альвеолярного відростка щелепи. Зменшувалися розміри пародонтальної кишені, а у ряді випадків вони зовсім закривалися в результаті повної адгезії слизової оболонки ясен до зуба, яка піднімалася по його поверхні догори.

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційній роботі вивчено особливості системних метаболічних та локальних структурних порушень у тварин з експериментальним гострим пародонтитом та ефективність використання стовбурових клітин для їх корекції.

Вперше встановлено, що за умов експериментальної корекції з використанням стовбурових клітин має місце пригнічення процесів ліпідної та білкової пероксидації, покращення функціонування ензимної та неензимної ланок антиоксидантної системи.

Доведено вплив диференційованої імуномодуляції з використанням мезенхімальних стовбурових клітин на стан імунної системи експериментальних тварин з гострим генералізованим пародонтитом.

Вперше доведено, що моделювання гострого експериментального пародонтиту супроводжувалося зростанням концентрації прозапальних

цитокинів – IL-1 β , TNF- α , IL-6 з максимальним зростанням на першу добу, стабільним підвищенням протягом 7-14 діб та зниженням до 21 доби.

Встановлено, що патологічний процес у пародонті супроводжується зростанням показників молекул середньої маси та еритроцитарного індекса інтоксикації за 7 діб спостереження, які суттєво відрізняються від показників тварин без змодельованої патології, що свідчить, про розвиток ендотоксикозу.

Вперше патоморфологічно показано сукупність порушень у тканинах пародонта після моделювання патологічного процесу та доведено протизапальний та регенераторний вплив мезенхімальних стовбурових клітин людини, а також м'язових стовбурових клітин щура на процеси регенерації кісткової тканини тварин з гострим генералізованим пародонтитом.

Вперше розроблено і запропоновано методику диференційованої імунomodуляції з використанням стовбурових клітин для корекції метаболічних та структурних порушень, що виникають при гострому експериментальному пародонтиті.

Практичне значення отриманих результатів. Результати досліджень доповнюють та уточнюють наукові дані щодо патогенетичних особливостей системних і локальних порушень при гострому експериментальному пародонтиті. Посилення процесів ліпідної пероксидації, зростання вмісту в сироватці крові прозапальних цитокинів є ключовими факторами, які визначають тяжкість системних порушень. Доведення автором позитивного впливу на процеси репарації, зниження тяжкості запалення та зменшення системних проявів змодельованого патологічного процесу стовбурових клітин є теоретичним підґрунтям для проведення подальших досліджень із можливістю подальшого застосування цього методу у клініці пародонтології.

Отримані результати роботи впроваджені в практику наукових досліджень та навчальний процес на кафедрах дитячої стоматології,

терапевтичної стоматології, гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, кафедри терапевтичної стоматології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, кафедри ортопедичної стоматології Дніпровського державного медичного університету.

Ключові слова: пародонтит, моделювання, експеримент, мезенхімальні стовбурові клітини людини, стовбурові клітини м'язів щурів, оксидативний стрес, антиоксидантна система, імунітет, цитокіни, протеїнази/інгібітори протеїназ, ендогенна інтоксикація.

ANNOTATION

Bihuliak H.T. Pathogenetic substantiation of the use of stem cells for the correction of immune disorders in periodontitis. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation for the Degree of Doctor of Philosophy in the specialty 221 «Dentistry» (22 «Health Care»). – Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2022.

Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2022.

The dissertation shows the peculiarities of pathological changes in the periodontal tissue and the body of rats in the simulation of acute generalized periodontitis and substantiates the feasibility of using mesenchymal stem cells for their correction.

The research was conducted on 132 purebred white male rats with a body weight of 180-200 g. The animals were on a complete vivarium diet with free access to water. The effectiveness of correction using stem cells was studied on a model of periodontitis caused by the introduction of lipopolysaccharide (LPS) into the gum tissue at 40 microliters (1 mg/ml) every other day for 14 days. On the 1st,

7th, 14th, and 21st days after the last administration of LPS, rats were decapitated under thiopental anesthesia (50 mg/kg). The animals were divided into 4 groups: I – animals without simulated pathology (intact); II – animals with simulated acute periodontitis; III – animals with periodontitis, which were corrected using human mesenchymal stem cells, IV – animals with periodontitis, which were corrected using rat myogenic stem cells.

The effectiveness of correction using rat myogenic stem cells was studied on the same model of periodontitis using histological methods. Decapitation in this series was performed on the 7th and 21st days after the last administration of LPS to rats. Material from animals that were not modeled for the pathological process served as a control.

According to the results of the study, it was established that the inflammatory process in the periodontium was accompanied by the development of oxidative stress, characterized by an increase in the intensity of production of reactive oxygen species on the 1st day of acute periodontitis and a subsequent decrease up to the 21st day. Under the conditions of MSC administration, the production of ROS decreased relative to the level of animals that were not corrected. A similar trend was observed in relation to the initial and intermediate products of lipoperoxidation, the content of TBC-active products in the blood serum, the dynamics of the final product of the lipoperoxide chain – SHO. The use of MSC as a corrective agent caused a decrease in these indicators in relation to animals without simulated pathology and reliably differed from similar indicators of animals with periodontitis without correction in the appropriate periods of observation.

Along with the increase in the processes of lipid peroxidation, there was an increase in the intensity of oxidative modification of proteins, and this applied to both of their fractions – OMB370 and OMB430. In animals with periodontitis, there was a significant increase in these indicators at the initial stages of observation, followed by a decrease until the 21st day (124.5 % from the norm).

After MSC correction, the level of OMB370 and OMB430 did not differ significantly from the level of animals without simulated pathology until the end of the experiment.

Since the activity of free radical processes depends not only on the intensity of production of active forms of oxygen, but also on their ability to initiate chains of lipoperoxidation or oxidative modification of proteins, we investigated the state of enzymatic and non-enzymatic links of the antioxidant system, which, in fact, counteracts the branching of these free radical chains.

We found that superoxide dismutase and catalase activity increased slightly on the 1st day of observation and then decreased until the 21st day. The introduction of MSC had a significant impact on these indicators. In particular, on the 1st day, the growth of SOD and catalase activity was less pronounced than in animals without correction. In the later periods of observation, these indicators of catalase activity reliably increased both in relatively healthy animals and in those that were not corrected.

Therefore, the introduction of MSCs is accompanied not only by slowing down the production of AFO and the activity of lipoperoxidation processes, but also by a change in the activity of antioxidant enzymes of the first line of defense – SOD and catalase.

Significant changes were also observed in indicators that are the main antioxidants of blood serum – ceruloplasmin and the general antioxidant property of blood plasma. We noted a slight increase in these indicators on the first day after simulating periodontitis with a further decrease until the 14th day and some increase on the 21st day. The use of MSCs was accompanied by a less pronounced than in the group of animals without correction, an increase in ceruloplasmin and ZAAP on the 1st day with subsequent normalization by the 21st day.

The glutathione system plays an important role in protecting against an excessive amount of free radical products. The main component of this system is reduced glutathione, which, due to sulfhydryl groups, is capable of neutralizing

free radical products. In animals with simulated acute periodontitis, we recorded a significant decrease in the concentration of reduced glutathione during all observation periods. This indicates the consumption of renewable equivalents in order to reduce the accumulation of free radical compounds. The enzyme that ensures this process is glutathione peroxidase. At the initial stages of the pathological process, peroxidase activity increased significantly and on the 1st day of observation was 113.7 % of the level of healthy animals. Subsequently, we observed a decrease in glutathione peroxidase activity, and on the 21st, this indicator was 81.8 %, which may indicate the exhaustion of the enzyme potential. The use of MSCs was accompanied by the normalization of glutathione peroxidase activity. Another important enzyme that ensures recovery of sulfhydryl corpses is glutathione reductase. Our studies indicate a significant decrease in glutathione reductase activity in animals that modeled acute periodontitis. During MSC correction, the decrease in enzyme activity was less pronounced than in animals that were not corrected.

Therefore, the modeling of acute periodontitis caused the increase of antioxidant protection factors at the early stage of the pathological process with subsequent depletion of antioxidant reserves, which can lead to an excessive increase in the activity of free radical processes and damage to periodontal tissues. Correction using MSC had a positive effect, smoothing out the changes that occurred.

We found that the use of MSCs affects the functional state of neutrophils and the activity of oxygen-dependent processes in them. The inflammatory process occurring in the periodontium of rats under correction conditions is characterized by lower cHST-test and iHST-test indicators compared to animals that were not corrected. A decrease in metabolic and oxidative processes in the focus of damage is accompanied by a decrease in the activity of oxidative processes, which leads to a decrease in the intensity of tissue damage in rats with acute periodontitis. And also the fact that in animals with acute periodontitis there is a significant increase

in CD4⁺ lymphocytes, a violation of the ratio of the main subpopulations of lymphocytes (CD4⁺ and CD8⁺), which is accompanied by a significant increase in the immunoregulatory index, as well as a violation of the functionality of the humoral link of the immune system, which is manifested by an imbalance of immunoglobulins in the blood in this direction and by reducing the resistance of the humoral link of the immune system.

The use of MSC significantly balances the imbalance of the immune system caused by the pathological process, contributing to the normalization of the immunoregulatory index and the main classes of immunoglobulins.

As is known, a specific feature of inflammation is the ability of tissues from the inflamed area to secrete inflammatory mediators, in particular, IL1- β , TNF- α and IL-6, which are chemotactic agents for neutrophils and other immunocompetent cells, as a result of which leukocytes migrate to the damaged area and lead to the development of inflammation. Pathogenetically, hyperproduction of active forms of oxygen by neutrophils and activation of free radical oxidation processes in the locus of inflammation should be noted, which is a typical pathological process and a key damaging factor.

The use of stem cells for the purpose of correction of experimental periodontitis was accompanied by a decrease in the concentration of pro-inflammatory cytokines in blood serum, which are strongly produced during the inflammatory process in response to damage to periodontal tissues in all periods of observation, and hyperproduction of anti-inflammatory IL-10, which can suppress the production of TNF- α and weaken its negative effects. Stem cells contain a number of active factors that can act as a carrier for cells that are important for the regeneration of periodontal soft tissues and bone tissue.

Analyzing the indicators of proteolytic activity of blood serum in rats that were modeled with acute periodontitis, we found that throughout the experiment they were significantly higher than in animals that were not modeled for the pathological process. The use of MSC slows down the activity of proteolysis

processes at the initial stages of the pathological process, which can be of significant importance for accelerating the regeneration of periodontal tissues damaged as a result of modeling the pathological process.

In the experimental reproduction of acute periodontitis, destructive changes in the epithelium and connective tissue stroma occur, blood flow is disturbed, and an inflammatory reaction is observed in the gum tissue.

The application of correction methods using human mesenchymal stem cells, as well as rat muscle stem cells, had a positive effect on the course of the simulated pathological process: the morphological changes that were characteristic of periodontitis were gradually reduced, normal blood supply to tissues was restored, tissue swelling gradually decreased, and gradually fields of polymorphic cell infiltration disappeared. Due to osteoblasts, the bone structure of the alveolar process of the jaw was restored. The size of the periodontal pocket decreased, and in a number of cases they completely closed as a result of complete adhesion of the mucous membrane of the gums to the tooth, which rose along its surface upwards.

The scientific novelty of the obtained results. The dissertation studied the features of systemic metabolic and local structural disorders in animals with experimental acute periodontitis and the effectiveness of using stem cells for their correction.

For the first time, it was established that under the conditions of experimental correction using stem cells, the processes of lipid and protein peroxidation are inhibited, and the functioning of the enzymatic and non-enzymatic links of the antioxidant system is improved.

The influence of differentiated immunomodulation with the use of mesenchymal stem cells on the state of the immune system of experimental animals with acute generalized periodontitis has been proven.

It was proved for the first time that simulation of acute experimental periodontitis was accompanied by an increase in the concentration of pro-

inflammatory cytokines – IL-1 β , TNF- α , IL-6 with a maximum increase on the first day, a stable increase during 7-14 days and a decrease up to 21 days.

It was established that the pathological process in the periodontium is accompanied by an increase in the average mass of molecules and the erythrocyte intoxication index during 7 days of observation, which significantly differ from the indicators of animals without simulated pathology, which indicates the development of endotoxiosis.

For the first time, a set of disorders in periodontal tissues was shown pathomorphologically after modeling the pathological process, and the anti-inflammatory and regenerative effect of human mesenchymal stem cells, as well as rat muscle stem cells on the processes of bone tissue regeneration in animals with acute generalized periodontitis was proven.

For the first time, a method of differentiated immunomodulation using stem cells was developed and proposed for the correction of metabolic and structural disorders arising in acute experimental periodontitis.

Practical significance of the obtained results. The research results supplement and clarify scientific data on the pathogenetic features of systemic and local disorders in acute experimental periodontitis. The strengthening of lipid peroxidation processes, the increase in the content of pro-inflammatory cytokines in blood serum are key factors that determine the severity of systemic disorders. The author's proof of a positive effect on reparation processes, reducing the severity of inflammation and reducing the systemic manifestations of the simulated pathological process of stem cells is a theoretical basis for conducting further research with the possibility of further application of this method in the periodontology clinic.

The obtained results of the work are implemented in the practice of scientific research and the educational process at the departments of pediatric dentistry, therapeutic dentistry, histology and embryology of the Ternopil National Medical University named after I. Ya. Gorbachevskiy, Ministry of Health of Ukraine,

department of Therapeutic Dentistry of M.I. Pirogov Vinnytsia National Medical University named after, Department of Orthopedic Dentistry, Dnipro State Medical University.

Key words: periodontitis, modeling, experiment, human mesenchymal stem cells, rat muscle stem cells, oxidative stress, antioxidant system, immunity, cytokines, proteinases/proteinase inhibitors, endogenous intoxication.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

1. Бігуляк Г. Т., Кліщ І. М. Зміни структури компонентів пародонта при моделюванні гострого пародонтиту у щурів та його корекції стовбуровими клітинами. *Вісник проблем біології і медицини*. 2022. № 2. С. 22–31. DOI: 10.29254/2077-4214-2022-2-2-165-22-31

2. Biguliak H., Klishch I. M. Structural organization of periodontium and morphological changes in its components in modeled periodontitis and its correction in rats. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 09. P. 862–874. DOI: 10.12775/JEHS.2021.11.09.101

3. Бігуляк Г. Т., Кліщ І. М. Вплив міогенних стовбурових клітин на перебіг ферментної та не ферментної системи антиоксидантного захисту у щурів з гострим пародонтитом. *Клінічна стоматологія*. 2022. № 2. С. 28–33. DOI: 10.11603/2311-9624.2022.2.13051

4. Бігуляк Г. Т., Кліщ І. М. Вплив міогенних стовбурових клітин на перебіг запального процесу в щурів із гострим пародонтитом. *Вісник медичних і біологічних досліджень*. 2021. № 1. С. 14–20. DOI: 10.11603/bmbr.2706-6290.2021.1.12082

5. Вплив мезенхімальних стовбурових клітин на перебіг імунного процесу в щурів з гострим пародонтитом / Г. Т. Бігуляк, А. І. Довгалюк,

I. М. Кліщ, О. М.-М. Стецевич. *Медична та клінічна хімія*. 2021. № 2. С. 116–124. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2021.i2.12259

6. Бігуляк Г. Т., Кліщ І. М. Показники системи протеїнази/інгібітори протеїназ при гострому експериментальному пародонтиті та після проведеної корекції стовбуровими клітинами. *Вісник проблем біології і медицини*. 2022. № 3 (166). С. 501–509. DOI: 10.29254/2077-4214-2022-3-166-501-509

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7. Бігуляк Г. Т. Показники ендотоксикозу у щурів з гострим пародонтитом та за корекції стовбуровими клітинами. *Матеріали XXVI Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених*, 13-15 квітня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 69–70.

8. Бігуляк Г. Т. Показники глутатіонової системи у щурів з гострим пародонтитом та за корекції стовбуровими клітинами. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : матеріали підсумкової LXV наук.-практ. конф., 9 червня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 53.

9. Бігуляк Г. Т. Показники клітинної ланки імунної системи у щурів з гострим пародонтитом та за корекції стовбуровими клітинами. *Матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції*, 26-28 жовтня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 6.

10. Бігуляк Г. Т. вплив стовбурових мезенхімальних клітин на показники окиснювальної модифікації білків у щурів з гострим пародонтитом. *Матеріали Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів*, 15-17 вересня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 98–99.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, скорочень і термінів	21
Вступ	23
Розділ 1 Сучасні уявлення про етіологію і патогенез хвороб тканин пародонта й обґрунтування застосування стовбурових клітин (огляд літератури)	29
1.1 Етіологія і патогенез пародонтиту	29
1.2 Обґрунтування застосування стовбурових клітин	43
Розділ 2 Матеріали та методи дослідження	52
2.1 Групи тварин для дослідження та експериментальна модель	52
2.2 Методика отримання мезенхімальних стовбурових клітин	56
2.3 Методи дослідження процесів ліпопероксидації та стану антиоксидантного захисту	57
2.3.1 Оцінка продукції активних форм кисню моноцитами крові методом проточної лазерної цитометрії	57
2.3.2 Визначення вмісту гідропероксидів ліпідів	59
2.3.3 Метод визначення вмісту ТБК-реагуючих продуктів	60
2.3.4 Визначення вмісту основ Шиффа	60
2.3.5 Визначення супероксиддисмутазної активності в гемолізаті еритроцитів	61
2.3.6 Визначення каталазної активності гемолізаті еритроцитів	62
2.3.7 Визначення концентрації церулоплазміну	64
2.3.8 Визначення концентрації відновленого глутатіону	65
2.3.9 Визначення глутатіонпероксидазної активності у крові	65
2.3.10 Визначення глутатіонредуктазної активності в крові	66
2.3.11 Визначення загальної антиоксидантної активності плазми крові	66
2.4 Визначення показників ендогенної інтоксикації	67

2.4.1	Визначення вмісту молекул середньої маси	67
2.4.2	Визначення еритроцитарного індекса інтоксикації	68
2.4.3	Визначення вмісту циркулюючих імунних комплексів	68
2.5	Вивчення стану системи протеїнази/інгібітори протеїназ	69
2.5.1	Визначення загальної протеолітичної активності плазми крові	69
2.5.2	Визначення вмісту α 2-макроглобуліну	69
2.5.3	Визначення вмісту α 1-інгібітора протеаз	70
2.6	Методи дослідження імунного статусу	70
2.6.1	Дослідження тесту з нітросинім тетразолієм (НСТ-тест)	70
2.6.2	Дослідження клітинного імунітету	72
2.6.3	Визначення вмісту імуноглобулінів класів А, М і G	72
2.7	Методи дослідження показників цитокінового статусу	72
2.8	Методи патоморфологічних досліджень	73
2.9	Статистичні методи дослідження	74
Розділ 3 Стан структурної організації пародонта у щурів і особливості морфологічних змін у його компонентах при моделюванні пародонтиту та його корекції стовбуровими клітинами		75
Розділ 4 Особливості перебігу гострого експериментального пародонтиту за умов застосування стовбурових клітин для його корекції		87
4.1	Інтенсивність процесів ліпідної пероксидації і стан антиоксидантної системи у щурів з гострим пародонтитом та за корекції мезенхімальними стовбуровими клітинами	87
4.2	Особливості неспецифічної і специфічної ланок імунного захисту у щурів з гострим пародонтитом та при застосуванні мезенхімальних стовбурових клітин	101
4.3	Особливості цитокінового профілю у сироватці крові щурів з гострим пародонтитом та після проведення корекції	112

4.4 Показники ендогенної інтоксикації у щурів з гострим експериментальному пародонтитом та після проведеної корекції мезенхімальними стовбуровими клітинами	118
4.5 Показники системи протеїнази/інгібітори протеїназ при гострому експериментальному пародонтиті та після проведеної корекції мезенхімальними стовбуровими клітинами	123
Розділ 5 Аналіз та узагальнення результатів дослідження	130
Висновки	154
Список використаних джерел	158
Додатки	184

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

- АОС – антиоксидантний система
- АФК – активні форми кисню
- БАПНА – -бензоїл-DL-аргінін-пара-нітроаніліду
- ВРО – процеси ввільнорадикального окиснення
- ГП – гострий пародонтит
- ГПЛ – гідропероксид ліпідів
- ГПЛ – гідропероксидів ліпідів
- ГР – глутатіонредуктаза
- ГСК – гемопоетичні стовбурові клітини
- ДК – диєнові кон'юганти
- ДХФ-ДА – дихлорфлюоресцеїну діацетат
- ДХФ-ДА – дихлорфлюоресцеїну діацетат
- Е – оптичної щільності
- ЕП – еритроцитарний індекс інтоксикації
- ЗААП – загальна антиоксидантна активність
- ЗДП – запально-деструктивні процеси
- Ig – імуноглобуліни
- К – коефіцієнт метаболічної активації
- КТ – каталаза
- ЛПС – ліпополісахарид
- МДА – малоновий діальдегід
- ММСК – мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини
- МСК – мезенхімальні стовбурові клітини
- МСМ – молекули середньої маси
- НО – пероксиду водню
- НСТ-тест – тест нітросинього тетразоліну
- $O^{\cdot -}$ – супероксидний радикал
- ОМБ – окисна модифікація білків
- OH^{\cdot} – гідроксильний радикал

ПОЛ – перекисне окислення ліпідів
ПР – показник резерву
СЕІ – синдром ендогенної інтоксикації
СК – стовбурові клітини
СОД – супероксиддисмутаза
СОРП- слизова оболонка ротової порожнини
ЦК - – циркулюючі імунні комплекси
ЦК – цитокіни
ЦП – церулоплазмін
ШКТ – шлунково-кишковий тракт
ШО – основ Шиффа
ІЛ-1 – ендогенний піроген, лімфоцитаактивуючий фактор
ІЛ-10 – інтерлейкін 10
ІЛ-2 – інтерлейкін 2
ІЛ-3 – інтерлейкін 3
ІЛ-5 – інтерлейкін 5
ІЛ6 – інтерлейкін 6
ІЛ-7 – інтерлейкін 7
ІЛ-8 – інтерлейкін 8
ІNF α – інтерферон α
М – середнє арифметичне відхилення
Na₂ЕДТА – етилендіамінтетраацетат натрію
SD – середнього квадратичного відхилення
TNF – фактор некрозу пухлин
TNF α – фактор некрозу пухлини α
 α 1-ІІ – α 1-інгібітора протеаз
 α 2-МГ – α 2-макроглобуліну

ВСТУП

Актуальність теми. Захворювання пародонта є однією з актуальних проблем сучасної стоматології та за частотою посідають друге місце після карієсу [1]. Сучасний рівень знань дозволяє розглядати етіопатогенез захворювань пародонта як мультифакторну модель, що включає наявність мікробної інвазії (бактерійні пародонтопатогени), неадекватну захисну реакцію імунної системи або її відсутність, вплив негативних місцевих факторів порожнини рота [2].

В сучасних умовах, внаслідок погіршення екологічної ситуації, нераціонального харчування, хронічного стресу розвиток та перебіг запальних захворювань пародонта в різних вікових групах населення набувають не тільки медичної, а й соціальної значимості [3]. Актуальність проблеми визначається швидким зростанням захворюваності, несвоєчасністю ранньої діагностики, рефрактерним перебігом процесу, суттєвими труднощами в досягненні стійкої ремісії, наявністю тісного зв'язку із загальним станом організму людини [1].

Метою лікування пародонтиту, на думку більшості авторів, є ліквідація запального процесу в пародонті, відновлення структурних та функціональних властивостей елементів пародонтального комплексу, попередження переходу запалення на глибші тканини, підвищення загальних і місцевих факторів захисту. Комплексний план лікування повинен включати етіотропну терапію, спрямовану на усунення причинних факторів, патогенетичну терапію із застосуванням методів і засобів, які впливають на патогенетичні ланки запально-деструктивного процесу в пародонті, саногенетичну терапію, що передбачає використання засобів, що підсилюють захисно-приспосувальні механізми [4].

У сучасній пародонтології важливу роль відіграє застосування засобів, що стимулюють регенераторний потенціал тканин пародонта, особливо

кісткової тканини [5]. Враховуючи це, зростає важливість дослідження саме мезенхімальних стовбурових клітин для лікування патології пародонта. Такі методи лікування є перспективними для більш ефективного відновлення втраченої кісткової тканини при різних захворюваннях, особливо тканин пародонта [6].

Клітинні технології – це нова і перспективна галузь сучасної медицини. На сьогодні вони застосовуються при лікуванні дуже широкого спектру захворювань, і в багатьох випадках вже досягнуті значні успіхи; ще більше число досліджень зараз знаходиться на стадії доклінічних і клінічних випробувань. Ствобурові клітини є основою розвитку клітинних технологій. Для реалізації можливостей клітинної терапії при лікуванні важких і інвалідизуючих захворювань необхідно вміти легко і надійно управляти стовбуровими клітинами для їх успішного перетворення, пересадки та приживлення.

Це передбачає проведення експериментальних досліджень для більш глибокого вивчення ефективності і безпечності застосування стовбурових клітин у пародонтології, що і мотивувало нас до виконання цієї роботи [7].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексних міжкафедральних науково-дослідних робіт Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України «Системні та органні порушення за дії надзвичайних факторів на організм, механізми їх розвитку та патогенетична корекція» (№ держреєстрації 0116U003390) та «Дослідження регенераторного потенціалу мезенхімальних стовбурових клітин при пошкодженні тканин в експерименті та перспективи їх терапевтичного застосування» (№ держреєстрації: 0120U104146), де дисертант є співвиконавцем.

Мета дослідження: з'ясувати особливості патологічних змін у тканині пародонта та організмі щурів при моделюванні гострого генералізованого

пародонтиту та обґрунтувати доцільність використання мезенхімальних стовбурових клітин для їх корекції.

Завдання дослідження:

1. З'ясувати інтенсивність процесів ліпопероксидації, стан ферментної та неферментної ланок антиоксидантної системи у щурів з гострим генералізованим пародонтитом та корекції МСК.
2. Визначити стан неспецифічної резистентності організму, клітинної та гуморальної ланок імунної системи у тварин з гострим пародонтитом та застосуванні МСК.
3. Встановити вплив корекції із застосуванням МСК на особливості цитокінового профілю сироватки крові у тварин з гострим пародонтитом.
4. Виявити характерні морфологічні ознаки змін пародонта за результатами патоморфологічного аналізу тканин пародонта та за корекції МСК.

Об'єкт дослідження: вплив мезенхімальних стовбурових клітин на перебіг гострого експериментального пародонтиту.

Предмет дослідження: особливості процесів ліпідної пероксидації, системи антиоксидантного захисту, неспецифічної реактивності організму, клітинної та гуморальної ланок імунної системи, цитокінового профілю, ендогенної інтоксикації, патоморфологічні зміни в тканині пародонта при гострому експериментальному пародонтиті та корекції з використанням мезенхімальних стовбурових клітин.

Методи дослідження: експериментальні – для моделювання гострого генералізованого пародонтиту; біохімічні – для визначення показників ендогенної інтоксикації, дослідження процесів ліпопероксидації та стану антиоксидантного захисту; імуноферментні – для дослідження вмісту цитокінів, факторів гуморального імунітету; цитофлуориметричні – для дослідження клітинної ланки імунітету та рівня активних форм кисню;

цитологічні – для визначення функціональної та метаболічної активності фагоцитів; патоморфологічні – для аналізу ступеня структурних пошкоджень у тканинах пародонта; математико-статистичні – для обробки отриманих цифрових результатів.

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційній роботі вивчено особливості системних метаболічних та локальних структурних порушень у тварин з експериментальним гострим пародонтитом та ефективність використання стовбурових клітин для їх корекції.

Вперше встановлено, що за умов експериментальної корекції з використанням стовбурових клітин має місце пригнічення процесів ліпідної та білкової пероксидації, покращення функціонування ензимної та неензимної ланок антиоксидантної системи.

Доведено вплив диференційованої імуномодуляції з використанням мезенхімальних стовбурових клітин на стан імунної системи експериментальних тварин з гострим генералізованим пародонтитом.

Вперше доведено, що моделювання гострого експериментального пародонтиту супроводжувалося зростанням концентрації прозапальних цитокінів – IL-1 β , TNF- α , IL-6 з максимальним зростанням на першу добу, стабільним підвищенням протягом 7-14 діб та зниженням до 21-ої доби.

Встановлено, що патологічний процес у пародонті супроводжується зростанням показників молекул середньої маси та еритроцитарного індекса інтоксикації за 7 днів спостереження, які суттєво відрізняються від показників тварин без змодельованої патології, що свідчить, про розвиток ендотоксикозу.

Вперше на гістологічному рівні показана сукупність порушень у тканинах пародонта після моделювання патологічного процесу та доведений протизапальний та регенераторний вплив мезенхімальних стовбурових клітин людини, а також м'язових стовбурових клітин щура на процеси

регенерації кісткової тканини тварин з гострим генералізованим пародонтитом.

Вперше розроблено і запропоновано методика диференційованої імунomodуляції з використанням стовбурових клітин для корекції метаболічних та структурних порушень, що виникають при гострому експериментальному пародонтиті.

Практичне значення отриманих результатів. Результати досліджень доповнюють та уточнюють наукові дані щодо патогенетичних особливостей системних і локальних порушень при гострому експериментальному пародонтиті. Посилення процесів ліпідної пероксидації, зростання вмісту в сироватці крові прозапальних цитокінів є ключовими факторами, які визначають тяжкість системних порушень. Доведення автором позитивного впливу на процеси репарації, зниження тяжкості запалення та зменшення системних проявів змодельованого патологічного процесу стовбурових клітин є теоретичним підґрунтям для проведення подальших досліджень із можливістю подальшого застосування цього методу у клініці пародонтології.

Отримані результати роботи впроваджені в практику наукових досліджень та навчальний процес на кафедрах дитячої стоматології, терапевтичної стоматології, хірургічної стоматології, патологічної фізіології, гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, кафедрі терапевтичної стоматології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, кафедрі ортопедичної стоматології Дніпровського державного медичного університету.

Особистий внесок здобувача Автором проведено інформаційно-патентний пошук, аналіз вітчизняної та іноземної літератури з досліджуваного питання, самостійно проведено моделювання гострого пародонтиту, дослідження впливу міогенних стовбурових клітин щура та мезенхімальних стовбурових клітин людини на перебіг патологічного

процесу, статистичну обробку результатів досліджень, сформульовано основні наукові положення дисертації, написано й оформлено дисертаційну роботу. Висновки сформульовано разом з науковим керівником. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, викладено фактичний матеріал дисертації.

Апробація результатів дослідження. Основні положення дисертації оприлюднені на XXVI міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2022); підсумковій науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 2022); XIII всеукраїнській науково-практичній конференції (Тернопіль, 2022); пленуму Українського наукового товариства патофізіологів (Тернопіль, 2022).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 10 наукових праць, з них 5 статей у наукових фахових виданнях України, 1 – в іноземному періодичному виданні, 4 публікації в матеріалах міжнародного конгресу та конференції.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 191 сторінці друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 2-ох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел, який включає 233 бібліографічних описів, додатків. Робота ілюстрована 9 таблицями та 31 рисунками. Список використаних джерел і додатки викладено на 33 сторінках.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ЕТІОЛОГІЮ І ПАТОГЕНЕЗ ХВОРОБ
ТКАНИН ПАРОДОНТА Ї ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ
СТОВБУРОВИХ КЛІТИН
(огляд літератури)

1.1 Етіологія і патогенез пародонтиту

Захворювання тканин пародонта, разом з ураженнями каріозним процесом, є найбільш складною та значною за поширеністю патологією щелепно-лицевої системи. За даними ВООЗ вони призводять до швидкої втрати зубів, яка в 5 разів перевищує втрату зубів від ускладнень каріозного процесу. Загальна кількість пацієнтів, що звертаються у лікувально-профілактичні заклади стоматологічного профілю з вище зазначеними проблемами, зростає щороку, а функціональні розлади зубо-щелепної системи, викликані втратою зубів як наслідок уражень пародонту, часто зумовлюють розвиток реактивних змін загального стану організму людини [8].

Поширеність даної патології в Україні серед населення працездатного віку досягає 85-95 %, при цьому в окремих регіонах майже 100 % і найважливіше те, що не має тенденції до її зниження [9, 10, 11].

На даний час розвиток та поширення запальних захворювань пародонта розглядають не як локальне запалення навколорубних тканин, а як реакцію цілого організму на бактеріальну інвазію тканин пародонта. За наявними даними літературних джерел, розвиток пародонтиту є наслідком дисбалансу між мікрофлорою порожнини рота та імунним захистом організму [12]. При цьому слід враховувати активність клітин-ефекторів запалення і достатність механізмів резистентності. Для розвитку запалення одного бактеріального чинника недостатньо, потрібно сукупність цілого ряду патогенетичних

факторів. Таким чином має важливе значення закріплення їх не тільки в тканинах пародонта, а й в цілому організмі, від чого залежить ефективність стандартної терапії. Запальні захворювання тканин пародонта в основному мають хронічний перебіг із періодами загострень, а тому є необхідним своєчасне і регулярне проходження курсів лікування [13].

Порівнюючи з іншими стоматологічними захворюваннями пошкодження тканин пародонта супроводжуються складнішими і глибшими порушеннями обміну речовин, ендокринологічними та імунологічними змінами. При цьому відбувається розвиток морфологічних змін тканин пародонта, його судинно-нервового апарату, сполучнотканинних структур м'яких тканин кістки коміркового відростка, що призводить до раннього руйнування комплексу тканин пародонта та виникнення патологічної рухомості, а також випадання зубів [10].

Передумовою до виникнення патологічного процесу в тканинах пародонта можуть бути чинники як екзогенного, так і ендогенного походження [11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 23]. Зважаючи на велику різноманітність причинних факторів спостерігається однотипний перебіг запального чи дистрофічно-запального процесу у тканинах пародонта та в залежності від локалізації, тривалості впливу етіологічних факторів проявляється різними морфологічними та пато-морфологічними варіаціями. Вплив різних патогенних факторів відбувається тоді, коли вони переважають пристосувально-захисні властивості тканин пародонта та при зниженні реактивності організму [24, 25, 26, 27, 28]. Умовно всі етіологічні чинники можна розділити на місцеві та загальні.

Серед місцевих пошкоджувальних чинників, які поєднують у собі механічну, хімічну та біологічну (мікроби, токсини) дію, особливу роль відіграють зубні відкладення [1, 2, 16, 29, 30]. Великою кількістю епідеміологічних, біохімічних, мікробіологічних досліджень в клінічних та експериментальних умовах встановлено патогенетичне значення зубного

нальоту у появі запальних та дистрофічно-запальних захворювань пародонта. З немінералізованих зубних відкладень важливе значення у виникненні уражень пародонта мають: зубна бляшка та м'який зубний наліт [16, 29, 30, 31, 32].

Важливими етіологічними чинниками при гінгівіті і пародонтиті є бактерії зубної бляшки (грампозитивні і грамнегативні коки, грампозитивні і грамнегативні палички, спірохети, *Bacteroides melaninogenicus*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*) [27, 33, 34, 35, 36, 37, 40].

У ротовій порожнині постійно знаходяться приблизно 400 штамів різноманітних мікроорганізмів, проте тільки 30 з них можуть вважатися умовно-патогенними для тканин пародонта [1, 2, 27, 31, 35]. Бактеріальна інвазія в тканини пародонта багатьма дослідниками визначається одним з основних чинників патогенезу даного захворювання [34, 36, 37, 35]. Значна деструкція кістки альвеолярного відростка та швидке прогресування генералізованого пародонтиту (ГП) у період його загострення може бути результатом активного вторгнення мікроорганізмів у тканини пародонта [27, 33, 35, 36].

Враховуючи важливу роль мікрофлори в розвитку захворювань пародонта, дані автори пропонують ідентифікувати їх наступним чином: патогенні мікроорганізми з вираженою асоціацією до захворювань пародонта (*Actinobacillus actinomycetemcomitans* тощо) та патогенні мікроорганізми з помірною асоціацією до захворювань пародонта (*Prevotella intermedia*, *Campilobacter rectus* тощо).

Основну роль в етіології генералізованого пародонтиту відіграє стан специфічної та неспецифічної резистентності, що спричиняє рівень місцевого імунітету порожнини рота [8]. На даний час певне значення має виявлення механізмів взаємозв'язку між станом імунної системи людини та активністю генералізованого пародонтиту (ГП) [2, 39].

Відомо, що розвиток ГП відбувається на фоні значного зниження рівня антимікробних систем ротової порожнини, що проявляється зменшенням секреції лізоциму і секреторного імуноглобуліну А, значним ростом оральної умовно патогенної мікрофлори [40,41, 42].

Фермент лізоцим (мурамідаза) є показником стану антимікробних систем порожнини рота [40, 41, 42, 43, 44]. Його активність тісно пов'язана з рівнем неспецифічних і специфічних антимікробних чинників. Лізоциму характерна бактеріостатична і бактерицидна дія щодо багатьох видів бактерій. Даний фермент гідролізує 1-4-глікозидні зв'язки полісахаридів і мукополісахаридів – основних речовин клітинної стінки бактерій. Піднижньощелепні та привушні слинні залози є джерелом лізоциму. Його кількість у змішаній слині більша, ніж в інших рідинах організму [45, 56]. Захисна роль лізоциму, як і інших ферментів слини, виявляється в порушенні здатності мікроорганізмів фіксуватися на поверхні слизової оболонки ротової порожнини (СОРП) та зубів [40, 41, 42, 45]. Біологічне значення лізоциму не обмежується антибактеріальною дією: для нього характерна участь в імунологічних, захисних реакціях організму, процесах регенерації і загоєнні ран у порожнині рота [47]. Окремі дослідження встановили, що в ротовій рідині у хворих, в яких спостерігалися запальні та дистрофічно-запальні захворювання пародонта активність лізоциму була висока на початкових стадіях, а прогресуюче зниження рівня зазначеного ферменту відзначається при ГП II-III ступенів розвитку [48].

До першої лінії неспецифічного захисту пародонта входять механічні та клітинні механізми [49]. Клітинна система захисту включає дендритні або антиген-презентуючі клітини, натуральні кілери та фагоцити. Роль перших виконують великі моноцити і лімфоцити, які токсично діють на антигенно змінені інфіковані клітини [50, 51, 52].

Важливе значення в антимікробному захисті мають імуноглобуліни всіх класів і, зокрема SIgA [53, 54, 55, 56]. На даний час антитіла класу А

визнані найбільш ефективними серед відомих гуморальних факторів захисту слизових оболонок. Основою для діагностики імунної недостатності (вторинного імунодефіциту) можуть бути відхилення (як правило зниження) у концентрації основних форм імуноглобулінів, а також зміни у співвідношенні між представниками їхніх окремих класів й інших захисних білків у ротовій рідині, наприклад, лактоферину і лізоциму, при цьому найчастішим клінічним проявом селективного імунодефіциту є хронічні захворювання пародонта, а також рецидивуючі інфекційно-запальні захворювання респіраторного тракту, середнього вуха, та запальна патологія лімфоїдних структур глотки [46, 53].

Як відомо, місцевий синтез має важливе значення у виникненні секреторних імуноглобулінів. Секреторний компонент імуноглобуліну А продукується клітинами серозного епітелію слинних залоз, на що вказують відмінності в структурі та властивостях сироваткового SIgA, відсутність кореляції між рівнем сироваткових імуноглобулінів і їхнім вмістом у секретах [45].

Молекула секреторного компоненту SIgA включає пептидні зв'язки, які є стійкі до впливу протеолітичних ферментів ротової рідини, але можуть руйнуватися ферментами, які утворюють гемолітичні стрептококи, нейсерії, гонококи, а кількість необхідного SIgA в здоровому організмі у значні мірі перевершує вказаний показник для всіх класів сироваткових імуноглобулінів [46].

Встановлено, що SIgA-антитіла блокують адгезію вірусів і бактерій до епітелію слизових оболонок. Даний механізм не є строго специфічним, тобто має вплив на широке коло (спектру) бактерій і не залежить від специфічності молекули SIgA. Антибактеріальна активність фагоцитів і лімфоцитів в імунній системі слизових оболонок і в периферичних лімфоїдних органах посилюється стосовно низки патогенних бактерій під впливом SIgA-антитіл [53]. Відзначається, що антибактеріальний захист у випадку карієсу і

захворювань тканин пародонта забезпечується індукцією SIgA-антитіл шляхом стимуляції імунної системи слизової оболонки [57].

У природному середовищі ефект SIgA залежить від наступних чинників: антибактеріальні субстанції зовнішньої секреції, такі як лактоферин, лактопероксидаза, лізоцим, а також від стану нормальної мікрофлори слизової оболонки [46, 53].

За результатами досліджень рівень імуноглобулінового складу різних секретів і виділень (ротоглоткового секрету, слини, жовчі, калу) показав схожість відхилень у векторі і кількості захисних білків при патології дихальної системи та шлунково-кишкового тракту (ШКТ), що вказує на універсальність характеру змін у вмісті імуноглобулінів у секретах різних відділів організму при наявності імунної недостатності [46].

Проведеними дослідженнями встановлено, що у випадку гострого пародонтиту відбувається зниження вмісту SIgA в ротовій рідині [58, 59]. Враховуючи викладене, роль лізоциму і SIgA та особливості їхньої взаємодії з біологічно активними речовинами організму у хворих на гострий пародонтит вивчені недостатньо та потребують подальших досліджень [46, 60].

Основну ланку патогенезу захворювань тканин пародонта займають запальні медіатори [61, 62, 63, 64, 65, 66, 67]. Цитокіни – це білки, що утворюють переважно активовані клітини імунної системи [68, 69, 70]. Вони позбавлені специфічності до антигенів і є медіаторами міжклітинних взаємовідношень при імунній відповіді, гемопоезі, запаленні [71, 72, 73], а також є учасниками регуляції регенерації та протипухлинному захисті. В системі організму відбувається зв'язок між імунною, нервовою, ендокринною та іншими системами. На місцевому рівні запальні медіатори несуть відповідальність за всі етапи розвитку адекватної відповіді на проникнення патогену, забезпечення його локалізації та видалення та як наслідок відновлення тканини [74, 75, 70, 76]. Цитокіни діють локально

(паракрини) на власні клітини, які їх продукують (автокрини), та дистанційно (ендокрини). За походженням запальні медіатори діляться на монокіни (продукти моноцитів), макрофагів (стромальних та епітеліальних клітин) і лімфокіни (продукти лімфоцитів) [77, 78, 79].

Кожен цитокін володіє перехресною, синергічною або інгібуючою активністю по відношенню до інших цитокінів, що становить нормальний розвиток імунної відповіді в рамках цитокінової мережі [70, 80, 81].

Модуляція відповіді організму на бактерійні продукти, такі як ліпополісахариди, є визначальним детермінуючим моментом виникнення та перебігу запальних і дистрофічно-запальних захворювань пародонту. Мікроорганізми активізують розвиток патологічного процесу за рахунок впливу на регулювальні клітини організму, спричиняючи синтез низки прозапальних цитокінів, медіаторів та ферментів, які здатні руйнувати тканини [69, 82] та знижувати місцеву захисну функцію організму [78]. Нейтофільні гранулоцити мають важливе значення у гомеостазі організм-бактерії при гострому пародонтиті [68, 78, 79]. Дані клітини мігрують до тканин, що піддалися запальному процесу, у значно більшій мірі порівняно з іншими захисними клітинами організму та переважають в епітелії ясенної кишені і суміжної сполучної тканини [83]. При цьому, ясенна рідина складається з 95-97 % нейтрофілів, 2-3 % моноцитів і 1-2 % лімфоцитів [69]. Нейтрофіли, які володіють високою протимікробною та цитолітичною здатністю, ефективно нейтралізують та елімінують патогени. Проте, вони посилюють і деструкційні процеси. Потенційна руйнівна здатність ймовірна при взаємодії нейтрофільного гранулоцита з мікроорганізмами [80, 81] у зв'язку з високим вмістом у клітинах протеїназ, вільних радикалів, похідних кисневих сполук, протизапальних цитокінів [77, 81, 82, 84]. Моноцити/макрофаги належать до факторів неспецифічного захисту організму, при цьому дані клітини беруть активну участь і у специфічній імунній відповіді. Водночас, макрофаги є важливими продуцентами

цитокінів, які регулюють запальні реакції в тканинах пародонту [82]. Якщо нейтрофільні лейкоцити представляють ефекторну ланку природженої клітинної відповіді та характеризують в основному її кількісні показники, то за рівнем цитокінів, а саме TNF- α , IL-6, IL-1 β можна оцінити функціональну активність клітин антимікробного захисту. Параметри інтерлейкінового статусу відображають тип формування дистрофічно-запального процесу в тканинах пародонта. Активний перебіг захворювання пов'язаний із зростанням концентрації IL-1 β , IL-6 та TNF- α , яка у свою чергу спричиняє посилення дистрофічно-запального процесу [78, 79, 80, 82].

IL-1 (ендогенний піроген, лімфоцит-активуєчий фактор). Молекулярна маса – 17,5 KD. В основному утворюється за рахунок активованих макрофагів, при цьому може продукуватися іншими клітинами, зокрема епітеліальними, ендотеліальними, гліальними, фібробластами, кератиноцитами [73, 82, 83, 86]. Розрізняють дві форми IL-1: IL-1 α та IL-1 β , які кодуються різними генами. Не враховуючи те, що гомологія амінокислотних залишків у IL-1 α і IL-1 β становить лише 26 %, разом вони зв'язуються з одним і тим же рецептором. Роль IL-1 в запальній відповіді є дуже важливою. За рахунок його впливу у момент презентації пептиду макрофагами Т-лімфоцитам-хелперам I-го типу, останні починають утворювати IL-2. В результаті чого, формуються умови для проліферації лімфоцитів та дозрівання клону специфічно активованих клітин. Окрім цього, зазначений інтерлейкін володіє широким спектром прозапальної, метаболічної, фізіологічної, гемопоетичної активності. Незважаючи на те, що вказані дві форми є продуктами різних генів, відзначається їхня взаємодія із спільним рецептором та володіють подібними біологічними властивостями. Зазвичай, за клітинами організму не спостерігається спонтанний синтез IL-1, при цьому вони відповідають його продукуванню на інфекцію, дію мікробних токсинів, запальних агентів, інших цитокінів, активованих компонентів комплементу або системи згортання крові. Перелік клітин-

продуцентів ІЛ-1 складає як гемо-поетичні клітини так і епітеліальні (лімфоцити, фібробласти, макрофаги). ІЛ-1 β виконує такі функції:

- посилює експресію адгезивних молекул, що зумовлює підвищення адгезії лейкоцитів до ендотеліальних клітин;
- спричиняє утворення простагландинів фібробластами і остеобластами;
- зумовлює активацію фагоцитів, що робить поверхню Т-клітин сприйнятливою до антигенів;
- стимулює вивільнення ІЛ-2 Т-клітинами, В-клітинами і НК-клітинами.

ІЛ-1 β є потужним цитокином, який зумовлює кісткову резорбцію та є посередником руйнування м'якої тканини через стимулювання виробництва простагландинів, індукцію колагенази а також інших протеаз. Вказаний цитокін володіє здатністю активувати синтез інших цитокінів: ІЛ-2, ІЛ-3, ІЛ-5, ІЛ-6, ІЛ-7, ІЛ-8, TNF- α , TNF- β . Окрім цього, ІЛ-1 здатний індукувати власний синтез та експресію рецепторів для ІЛ-2. ІЛ-1 β здійснює множинні прозапальні ефекти у взаємодії з TNF- α та ІЛ-6, впливає на гемопоез та бере участь у неспецифічному протиінфекційному захисті [73, 75, 79, 82].

Інтерлейкін-6 (ІЛ-6) є багатофункціональним цитокином, котрий утворюється різними типами клітин – макрофагами, Т- і В-лімфоцитами, фібробластами, ендотеліальними, епідермальними та мікрогліальними клітинами, хондроцитами, остеоцитами. ІЛ-6 володіє великою кількістю різноманітних ефектів у порівнянні з іншими цитокинами. При цьому, він стимулює утворення В-клітин, лаброцитів, утворює як лімфоїдні, так і нелімфоїдні клітини, здійснює регуляцію гострофазної запальної відповіді та гемопоезу [81, 82].

Однією із важливих функцій ІЛ-6 є регулювання процесів дозрівання антитілопродукуючих клітин з В-лімфоцитів та власне утворення імуноглобулінів. ІЛ-6 є учасником активування Т-лімфоцитів та регулює

синтез гострофазних білків (фібриногену, α -антихімотрипсину, кислого глікопротеїну, гаптоглобіну, С-реактивного білка), які зумовлюють запалення [71, 82]. Взаємодіючи з іншими цитокінами, IL-6 посилює проліферацію та диференціювання стовбурових клітин, активування CD4+ та CD-8+ Т- лімфоцитів [81, 78].

Фактор некрозу пухлин (TNF) є одним із цитокінів природженого імунітету організму, що має відношення в першу чергу до клітинної регуляції. Передусім, кахектин (TNF- α) продукується активованими макрофагами, моноцитами, натуральними кілерами. Потужним стимулом для утворення TNF- α макрофагами є ліпополісахариди стінок бактерій, ендотоксини, що підсилюють це продукування [71, 85]. Вивільнення TNF- α стимулюється γ - інтерфероном, IL-1, та безпосередньо TNF- α (автокринно) [81, 82]. Кахектин належить до надродини білків, що регулюють проліферацію, активацію і диференціацію великої кількості клітин та мають здатність індукувати апоптоз. TNF- α впливає на моноцити та макрофаги ендо-, пара- та автокринно. Він хемотаксично діє на моноцити та нейтрофіли, посилюючи їх цитотоксичність [81, 82, 85]. TNF- α активує нейтрофіли, збільшуючи їх фагоцитарні властивості та прискорює їх міграцію з кісткового мозку. Водночас, він стимулює продукцію нейтрофілами реактивних кисневих сполук, посилює їх бактерицидні і цитотоксичні властивості, має важливе значення у протидії інфекційній резистентності. TNF- α є одним із основних цитокінів запальної відповіді [85]. Даний цитокін впливає на імунну систему не лише безпосередньо, а й індукуючи вивільнення інших цитокінів [77, 82, 85]. Зазначений вплив на імунну систему не є однозначно активуючим. Значний синтез TNF- α може спричинити супресію клітинної відповіді та зниження активності NK-клітин. Основними проявами біологічної активності TNF- α є: вибіркова цитотоксичність щодо деяких пухлиноподібних клітин, пригнічення синтезу ключового ферменту ліпогенезу-ліпопротеїнкінази, участь у регулюванні

запалення. Даний цитокін належить до групи прозапальних цитокінів та виконує важливі функції в період „запуску” запалення: активує ендотелій, сприяє адгезії лейкоцитів до ендотелію завдяки індукції експресії на ендотеліальних клітинах адгезивних молекул з подальшою трансендотеліальною міграцією лейкоцитів у вогнище запалення, активує лейкоцити (гранулоцити, моноцити, лімфоцити) індукує продукування інших прозапальних цитокінів: IL-1, IL-6, володіючи синергічною з TNF- α дією [77, 82, 85]. При цьому, TNF- α стимулює проліферацію фібробластів, пришвидшує тканинну генерацію, збуджує ангиогенез, індукує продукцію протеаз, активує остеобласти. Висновки проведених різними авторами досліджень вмісту TNF- α у біологічних рідинах неоднозначні, а інколи суперечливі. Таким чином, одні науковці при наростанні деструктивних змін в пародонті відзначали збільшення концентрації TNF- α [82], інші – навпаки [79]. Проведені мною спостереження спростують, або підтверджують результати інших авторів.

Дерегуляція цитокінів та імуноглобулінів у тканинах пародонта зумовлює деструктивні зміни. Збільшений вміст IL-1, IL-6 і TNF- α спричиняє процеси та біохімічні реакції, котрі в свою чергу руйнують пародонт. IL-1 і TNF- α активують остеокласти, IL-1 посилює синтез колагеназ, IL-6 активує диференціацію В-клітин на плазматичні клітини з виробленням IgG, який зумовлює фіксацію комплексу та виділенню хемотаксичних компонентів [87, 88, 89, 90, 91, 92].

Дослідниками доведено, що найшкідливіша дія при хворобах пародонта характерна для IL-1 β і TNF- α . У патогенезі запалення та резорбції кісткової тканини при генералізованому пародонтиті має певне значення посилене продукування IL-6 і IL-8, водночас хронічне пригнічення продукування IL-2 і IL-2R веде до розвитку аутоімунних порушень [61, 90, 93, 94, 95].

Серед прозапальних цитокінів, для яких є властиві синергічні ефекти існують досить складні взаємні регулювальні відносини. Водночас, ІЛ-6 інгібує продукування ІЛ-1 та TNF- α , які є активними індукторами синтезу ІЛ-6. При цьому, ІЛ-6 через гіпоталамус-гіпофізарну регулюючу ланку посилює продукування кортизолу, який підсилює індукцію ІЛ-6 гострофазних білків, проте інгібує експресію гена ІЛ-6 та генів інших прозапальних цитокінів [78, 81, 82].

У медичній літературі досить широко висвітлені загальнобіологічні закономірності розвитку процесів вільнорадикального окиснення (ВРО) і перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), а також їхнє значення у формуванні таких патологічних станів, як запалення, гіпоксія, імунний конфлікт, що притаманні хворобам різних органів і систем [96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103]. Вільно-радикальна деструкція біосистем є ефективною ланкою реалізації цитопатогенних ефектів великої кількості бактеріальних токсинів і патогенних чинників не інфекційної природи та фактично не залежить від ініціюючих механізмів розвитку патології [104, 105]. Доведена значна роль окисного стресу в розвитку запально-дистрофічних захворювань та водночас активних форм кисню (АФК) в індукції пошкодження тканин пародонта та їх вплив на місцеві і системні зміни окисно-відновного балансу тканин пародонта у хворих на гострий пародонти [100, 101, 102, 106, 107, 108, 109].

На клітинному рівні пошкоджуючи дія активних форм кисню (АФК)– супероксидного радикалу($O^{\cdot-}$), пероксиду водню (H_2O_2), гідроксильного радикалу(OH^{\cdot}) та ін. при недостатності антиоксидантного захисту (АОЗ) націлена на наступні об'єкти: білки, ліпіди, нуклеїнові кислоти. Таким чином, АФК спричиняють як ПОЛ так і окисну модифікацію білків (ОМБ), яка має важливе значення як в деструкції клітинних мембран, так і структурних та транспортних білках. Кисневі радикали можуть спричинити модифікуючу дію на білки опосередкованими шляхами, а саме через продукти їхньої первинної взаємодії з іншими біомолекулами [102, 110, 111,

112]. Таким чином, швидкість протеолітичного розщеплення модифікованих гідроксильним радикалом білків (ОН-модифікованих) протеазами еритроцитів, ретикулоцитів чи бактеріальних клітин зростає приблизно 50 разів [113].

Відзначається що активність ОМБ є в значній мірі чутливим методом визначення окисного стресу, тому що продукти ОМБ більш стабільні, ніж продукти ПОЛ–дієнові кон'югати чи малоновий диальдегід [113, 114]. Кисневозалежне окиснення білків є раннім індикатором пошкодження тканин та органів, а біологічно активні речовини, що утворюються при цьому можуть володіти цитотоксичною дією і запускати механізми розвитку гіповітамінозу, старіння, порушень імунітету, розвиток аутоімунних реакцій, онкологічного переродження тощо, як наслідок процесу ОМБ при всіх патологічних станах мають перебувати під постійним лабораторним контролем [96, 98, 104, 115, 116, 117, 118].

Окремими дослідженнями ПОБ/АОЗ у хворих на гострий пародонти встановлено, що в ротовій рідині спостерігається підвищення рівня ОМБ усіх фракцій на фоні зниження активності антиоксидантних ферментів СОД та каталази [119]. За деякими науковими даними, у хворих на гострий пародонтит з гноетечею із пародонтальних кишень спостерігається зниження мобілізації бактерицидного потенціалу мононуклеарів та нейтрофілів, що супроводжується зростанням активності ферментів СОД та каталази [120]. Є.В. Сербіненко [121] в аналогічному випадку відзначає зниження активності СОД.

У патогенезі запального процесу порожнини рота має велике значення як неспецифічний захист, так і специфічний, який пов'язаний із функцією адаптивного імунітету.

Доведено, що в слині зростає концентрація sIg A, Ig A, IgM, IgG, підвищений рівень ІЛ-8, ІЛ-1 та знижений вміст ІЛ-4 [122, 123, 124, 125, 126, 127].

Кількість IgG, яка може проникати в тканини, є вищою у хворих на пародонтит, порівняно із здоровими особами. Окрім цього, концентрація даного імуноглобуліна практично не відрізняється у пацієнтів із різною ефективністю лікування. Концентрація IgA у слині хворих на пародонтит є вищою ніж у здорових осіб, при цьому вона є значно підвищеною у тих хворих, для яких лікування було не ефективним. IgM фіксується тільки в деяких випадках у хворих на пародонтит [124, 126].

Зростання концентрації IgG так як і поява IgM у слині хворих на пародонтит, пов'язане з розвитком запального процесу, в результаті чого відбувається підсилення місцевого синтезу антитіл двох вказаних класів імуноглобулінів чи їх більш активна ексудація через підвищення проникності судинних стінок [128, 129].

Відповідно до літературних даних, у людей старших вікових груп значно змінюється Т-залежна ланка імунітету зі зниженням субпопуляцій Т-лімфоцитів [123]. Спостерігається загальна тенденція до зростання вмісту імуноглобулінів, зокрема IgA [130]. Водночас, збільшується концентрація проатерогенних чинників, таких як: ШБ-у, ІЛ-10, ІЛ-5, ІЛ-8, ІЛ-12, ІЛ-18 [123, 131].

Можна зробити висновок, що в таких хворих присутня гіперергічна імунна відповідь, яка може спричиняти пошкодження здорових тканин пародонта, погіршення репаративних процесів, проникності та мікроциркуляції судин, а також виникнення алергічних реакцій, які ймовірно є одними із чинників неефективного лікування [128].

Таким чином, клітинно-опосередковані імунні реакції у першу чергу можуть викликати цитотоксичні ефекти на клітини пародонтопатогенного комплексу, що впливатиме на рівень активності запалення і резорбції міжальвеолярних перегородок. Окрім того, первинні фактори уродженого, неспецифічного захисту тканин, клітинноопосередковані імунні відповіді, потрібні для протимікробного та протиінфекційного захисту, а також

розглядаються як нестійка рівновага між двома типами імунних реакцій, яка може зміщуватися в будь-якому напрямку, що й зумовлює характер перебігу і ступінь тяжкості запального процесу в пародонті [131, 132].

Важлива й до кінця не вивчена проблема стоматології — хронічна осередкова інфекція в навколозубних тканинах та її вплив на організм [8-10]. Новітні дослідження, метою яких є підвищення ефективності комплексного лікування пацієнтів із запально-деструктивними процесами (ЗДП) альвеолярного відростка, проводяться з урахуванням сучасних методів і засобів лікування, особливостей розвитку та перебігу пародонтиту, етіопатогенетичної концепції біоактивного впливу на деструктивне вогнище й організм у цілому. Одним з важливих компонентів патогенетичного лікування є вплив на місцеві та системні регуляційні чинники резорбції кісткової тканини а також стимулювання процесів репаративної регенерації тканин пародонта [11].

1.2 Обґрунтування застосування стовбурових клітин

Для медицини XXI століття характерним є виникнення нової парадигми в терапевтичних підходах: на зміну традиційним методам лікування приходить більш ефективне використання внутрішніх можливостей самого організму. Появився новий напрямок в медицині — клітинна замісна терапія, яка базується на можливості стовбурових клітин до відновлення пошкоджених внаслідок хвороби чи травми тканин та органів людини. На даний час клітинну терапію вивчають у всьому світі за різними напрямками, а також і лікування спадкових та набутих захворювань, які до теперішнього часу вважалися невиліковними традиційними методами лікування. Відзначається успішне застосування стовбурових клітин у лікуванні понад 100 видів важких хвороб, серед яких інсульт, нейродегенеративні захворювання, інфаркт міокарда, хронічна серцева

недостатність, травми головного і спинного мозку, ювенільний діабет, а також у ряді онкологічних і спадкових захворювань.

Клітинні технології – це нова та перспективна галузь сучасної медицини. Клітинні технології використовуються для лікування великої кількості захворювань, та в багатьох випадках вже досягнуті значні успіхи, при цьому ще більше досліджень на даний час знаходиться на стадії клінічних випробувань. Стовбурові клітини є базою для розвитку клітинних технологій. Вони використовуються для розробки нових методів замісної клітинної і тканинної терапії. Стовбурові клітини недиференційовані (незрілі) клітини, які присутні в усіх багатоклітинних організмах. Для втілення можливостей клітинної терапії при лікуванні важких та індивідуальних захворювань, потрібно вміти легко та надійно керувати стовбуровими клітинами для їх ефективного перетворення, пересадки та приживлення. Тому необхідно, щоб стовбурові клітини могли:

1. Достатньо швидко ділитися;
2. Утворювати необхідний тип клітин;
3. Не руйнуватися в організмі після пересадки;
4. Вростати в навколишні тканини після пересадки;
5. Здійснювати необхідні функції відповідно до типу клітин;
6. Не шкодити організму після пересадки.

Розвиток багатоклітинних організмів розпочинається з однієї стовбурової клітини – зиготи. Внаслідок численних циклів ділення та процесу диференціювання утворюються такі види клітин, які характерні для зазначеного біологічного виду. У людському організмі вказаних видів клітин більш 220. Стовбурові клітини зберігаються та функціонують і в дорослому організмі, завдяки їм може здійснюватися оновлення та відновлення тканин і органів. При цьому, у ході старіння організму їх кількість зменшується [133].

Джерела літератури використовують дві основні класифікації [134-139], в основу яких покладена здатність клітин до диференціювання чи їх походження.

За здатністю до диференціювання виділяють наступні види клітин:

1) тотипотентні – диференціюються в повноцінний організм. Це ембріональні клітини і клітини позазародкових структур до імплантації (11-й день після запліднення); до них належить запліднена яйцеклітина, або зигота;

2) поліпотентні – диференціюються в цілісний орган або тканинні структури. Це ембріональні клітини з постімплантаційного періоду до 8-го тижня включно; із зазначених стовбурових клітин розвиваються три зародкових листки: ектодерма, мезодерма і ентодерма;

3) мультипотентні – утворюють клітини декількох видів; породжують клітини різних тканин, але в межах одного зародкового листка;

4) олігопотентні клітини можуть диференціюватися лише в деякі, близькі за властивостями, типи клітин;

5) уніпотентні – зберігають здатність до диференціювання тільки в один вид клітин.

У всіх стовбурових клітинах є дві властивості: самовідновлення, тобто можливість зберігати незмінний фенотип в результаті поділу (без диференціювання) та потентність (диференціюючим потенціалом), чи здатність давати потомство у вигляді спеціалізованих типів клітин.

Є два механізми, які підтримують популяцію стовбурових клітин в організмі: асиметричний поділ, завдяки якому продукується одна і та ж пара клітин (одна стовбутова клітина і одна диференційована клітина) та стохастичний розподіл: одна стовбутова клітина ділиться на дві більш спеціалізованих.

За походженням виокремлюють чотири основних типи стовбурових клітин: ембріональні, фетальні, соматичні і мезенхімальні.

Ембріональні стовбурові клітини можна виявити на ранній стадії розвитку зародка. Запліднена яйцеклітина (зигота) розпочинає поділ через 30 годин з моменту запліднення, і до третього-четвертого дня ембріон являє собою компакту кулю, що складається з 12 або більше клітин. Ще через п'ять-шість днів ембріональні клітини формують порожнисту клітинну сферу діаметром 150 мікрон – бластоцисту. Клітини внутрішньої клітинної маси – бластоцисти (близько 30 клітин) і є ембріональні стовбурові клітини. Їх відмінна риса – здатність до утворення з однієї первісної клітини цілої лінії генетично ідентичних клітин.

Фетальні стовбурові клітини розвиваються в різних органах. Отримують з плодового матеріалу після аборту (зазвичай термін внутрішньоутробного розвитку плода становить 9-12 тижнів).

Постнатальні стовбурові клітини присутні в уже сформованих тканинах дорослого організму. Ці клітини мультипотентні. В залежності від умов, що створюють фон для диференціювання і зростання, ці клітини здатні диференціюватися в клітини іншої тканини. Головним завданням постнатальних стовбурових клітин є реконструкція уражених тканин. Поділяються на три основних групи: гемопоетичні (кровотворні), мультипотентні мезенхімальні (стромальні), тканинспецифічні клітини-попередники.

Гемопоетичні стовбурові клітини (ГСК) – мультипотентні стовбурові клітини, що дають початок всім клітинам крові мієлоїдного і лімфоїдного рядів.

Джерела ГСК:

1. Червоний кістковий мозок.
2. Пуповинна кров.
3. Стимульована периферична кров після активації кісткового мозку за допомогою спеціальних фармакологічних препаратів.

Найбільш важливим і перспективним джерелом ГСК є пуповинна кров. Перевага пуповинної крові як джерела СК в тому, що кров збирають на самому ранньому етапі життя, коли вона ще не була схильна до дії оточуючих факторів, а також використання пуповинної крові дає гарантію на повну сумісність матеріалу. Клітини пуповинної крові мають абсолютну генетичну ідентичність до тканин господаря і часткової до тканин матері і близьких родичів. Вміст кровотворних стовбурових клітин може досягати 1–2 % від загального числа лейкоцитів (0,3–0,5 %). Трансплантація виконується з розрахунку числа клітин до ваги дитини, отже, потрібно намагатися зберегти як якомога більше клітин. Ці клітини мультипотентні і диференціюються в клітини обмеженого числа типів.

Мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини здатні диференціюватися в остеобласти (клітини кісткової тканини), хондроцити (хрящові клітини) і адипоцити (жирові клітини). Вони здатні придушити імунну реакцію у відповідь на трансплантацію, таким чином, для трансплантації можна використовувати алогенні мезенхімальні СК, що не володіють повною сумісністю. Джерелами ММСК є кістковий мозок, жирова тканина, пуповинна кров, пульпа молочних зубів, амніотична (навколоплідна) рідина.

Тканиноспецифічні прогеніторні клітини розміщуються в різних тканинах і органах, відповідають за оновлення клітинної популяції тканини. Ці клітини є оліго- і уніпотентними і можуть ділитися певну кількість разів. До них відносяться нейрональні стовбурові клітини, стовбурові клітини шкіри, скелетної мускулатури, міокарда, жирової тканини і стромальні клітини спинного мозку.

Поки добре вивчені три різновиди фетальних клітин: нейтральні стовбурові клітини (включаючи клітини нервового гребеня), гематопоетичні стовбурові клітини і клітини – попередники β -клітин підшлункової залози, що виробляють інсулін.

Нейтральні стовбурові клітини здатні трансформуватися в клітини головного мозку. Клітини нервового гребеня диференціюються в клітини, що іннервують серце і стінку кишечника, пігментні клітини шкіри (меланоцити), хрящ і кістки обличчя, сполучну тканину і інші. Гематопоетичні стовбурові клітини перетворюються в різноманітні елементи крові. Велике число таких клітин містять пуповина і плацента.

Соматичні стовбурові клітини здатні перетворюватися не в усі, а тільки в клітини певних типів, що утворюють тканини дорослого організму. Можливість їх використання для регенерації тканин була відкрита кілька десятиліть тому. Джерелами соматичних стовбурових клітин в організмі дорослої людини є кістковий мозок, периферична кров, жирова тканина, головний мозок, скелетні м'язи, пульпа зуба, печінку, шкіра, слизові оболонки шлунково-кишкового тракту, підшлункова залоза. Клітини даного виду підтримують відновлення тканин протягом усього життя людини.

Соматичні стовбурові клітини, виділені з кісткового мозку, можуть перетворюватися в клітини головного мозку. Аналогічні клітини, отримані з тканини головного мозку, здатні трансформуватися в клітини крові і м'язової тканини. У деяких органах соматичні стовбурові клітини генерують клітини декількох типів. Наприклад, стовбура клітина нервової тканини може диференціюватися в нейрони головного мозку, гліальні клітини і астроцити. Подібна здатність клітин до трансформації називається пластичністю.

Особливий інтерес представляють собою стовбурові клітини дорослого організму, отримання яких не пов'язано з руйнуванням ембріона людини, як у випадку з ембріональними стовбуровими клітинами. Найбільш поширений тип мультипотентних стовбурових клітин, здатних до диференціювання в остеогенному, хондрогенному і адипогенному напрямку і який в даний час широко використовується для розробки нових клітинних біомедичних технологій, це мезенхімальні стовбурові клітини. Їх можливо виділяти з кісткового мозку, з жирової тканини, хрящів, пуповини і

пуповинної крові, плаценти, пульпи зубів та інших тканин людини [140, 141, 142].

МСК були вперше описані як фібробласто-подібні елементи кісткового мозку дорослих особин, здатні *in vitro* прилипати до поверхності пластикових культуральних судин, рости при рідкому розсіві у вигляді окремих колоній і диференціюватися в клітини жирової, хрящової і кісткової тканин [143, 144, 145]. Пізніше було встановлено, що МСК здатні також давати початок клітинам ендотелію [146], кардіоміоцитам [147], нейронам і астроцитам [148].

До останнього часу основним джерелом матеріалу для доклінічних досліджень і клінічних випробувань залишався кістковий мозок лабораторних тварин і людини. В останні роки все більше уваги приділяють МСК, виділеним з підшкірної або вісцеральної жирової тканини [149].

Крім того, МСК можуть бути виділені практично з будь-якої тканини дорослого організму, а також з плаценти [150], плацентарної крові [151], судин і сполучної тканини пупкового канатика [152, 153].

При вивченні МСК, виділених з різних тканин, відзначали безсумнівну подібність між ними. Особливу увагу привернула можливість ізоляції МСК зі стінок кровоносних судин [154]. Це наводило на думку про те, що в організмі дорослих індивідів існує єдине системне джерело МСК. Вказівки на те, що таким джерелом можуть бути клітинні елементи судинної стінки, були вперше отримані при дослідженні розвитку ембріона людини. Було показано, що в ембріогенезі гемопоетичні клітини з'являються в зонах контакту з судинним ендотелієм [155]. Ці ж спостереження вказували на тісний зв'язок ендотелію з вогнищами гемопоезу в ембріональній печінці і кістковому мозку плода [156, 157]. Далі в декількох незалежних дослідженнях були отримані докази того, що джерелом МСК, що виділяються з тканин дорослих індивідів, є стромальні периваскулярні елементи, перицитів і адвентіціальні клітини [158, 159]. Ці спостереження були підтверджені рядом авторів [160, 161, 162]. Сформульовані їх основні уявлення нині отримують все більш

широке визнання [154, 163, 164] і передбачають перегляд історично сформованої точки зору, згідно з якою зовнішній шар стінок артерій і вен (адвентиціальна оболонка) є інертною структурою, виконує переважно механічну функцію.

У 2002-2003 роках були опубліковані повідомлення про невідому раніше здатність МСК пригнічувати проліферацію Т-лімфоцитів, індуковану аллоантигенами [165, 166, 167], антитілами проти поверхневих маркерів CD3 і CD28 [168] або антигенами, які використовуються для імунізації [169]. У 2005 році було проведено Міжнародна нарада, в ході якої було визнано, що здатність МСК впливати на функції імунокомпетентних клітин може в майбутньому знайти застосування в якості імуносупресивного засобу при пересадці органів і тканин, лікуванні проявів тканинної несумісності, аутоімунних і алергічних захворювань [170]. Аналогічна точка зору відображена в оглядах літератури, узагальнили перші підсумки досліджень даного напрямку [171, 172, 173]. За останні роки опубліковані результати безлічі оригінальних досліджень та оглядів літератури, пов'язаних з впливом МСК на фактори вродженого і адаптивного імунітету.

З метою підвищення ефективності лікування генералізованого пародонтиту потрібно посилити регенераторний потенціал тканин пародонта, особливо кісткової тканини. Враховуючи це, зростає цікавість дослідження саме стовбурових стромальних клітин людини у тканинах пародонта. Опираючись на аналогічні дослідження виникає можливість стимулювати ріст кісткової тканини у даної категорії хворих на генералізований пародонтит [7, 174, 175]. Тому, застосування схожих методів тканинної інженерії в лікуванні ускладнень карієсу [176, 177], захворюваннях пародонта та оперативного хірургічного лікування уражень щелепно-лицевої ділянки є актуальним [7, 174-178]. Зазначені методи лікування є необхідними у найближчій перспективі для ефективного відновлення втраченої ушкодженої

кісткової тканини при різних захворювання, особливо тканин пародонта [179].

Резюме

З удосконаленням медичних технологій, застосування стовбурових клітин використовується у світі як інноваційний ефективний підхід до вирішення клінічних завдань у стоматології, щелепно-лицевій хірургії (хірургія пародонта, реконструктивна хірургія, дентальна імплантація, регенеративна ендодонтична терапія, відновлення пошкодженого дентину, вирощування зубів з використанням біоінженерних технологій), та інших галузях медицини, таким чином йдеться про міждисциплінарний підхід. Нині така технологія апробується і в Україні .

Відтак, виникає потреба у вивченні теоретичних та прикладних аспектів застосування стовбурових клітин, як інноваційного підходу, зокрема до вирішення стоматологічних проблем.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дисертаційна робота виконана на базі центральної науково-дослідної лабораторії (свідоцтво про атестацію № 001/18 від 26 вересня 2018 року) та міжкафедральної навчально-дослідної лабораторії (свідоцтво про атестацію №132/17 видане 29 грудня 2017 року) Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України.

При роботі з тваринами дотримувались правил поводження з експериментальними тваринами згідно директиви Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання постанов, законів, адміністративних положень Держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються для наукової мети [180]. Всі експериментальні дослідження виконано з дотриманням норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідження та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.) і ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001), що підтверджено комісією з біоетики Тернопільського національного університету імені І.Я. Горбачевського (протокол засідання № 59 від 05.06.2020 р.) [181].

2.1 Групи тварин для дослідження та експериментальна модель

Дослідження проводили на 132-ох білих безпородних щурах-самцях масою тіла 180-200 г, отриманих з віварію ТНМУ, згідно з вимогами «Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин» [182]. Тварини знаходилися на повноцінному раціоні віварію з вільним доступом до води. Ефективність корекції з використанням стовбурових клітин вивчали на моделі пародонтиту, викликаного уведенням ліпополісахариду (ЛПС) в тканини ясен по 40 мікролітрів (1мг/мл) через день протягом 14-ти діб. Через 1-ну, 7, 14 і 21-шу доби після останнього уведення

ЛПС щурів декапітулювали під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Тварин розподілили на 4 групи: I – тварини без змодельованої патології (інтактні); II – тварини із змодельованим гострим пародонтитом; III – тварини з пародонтитом, яким проводили корекцію з використанням мезенхімальних стовбурових клітин людини, IV – тварини з пародонтитом, яким проводили корекцію із використанням міогенних стовбурових клітин щура (табл. 2.1).

Таблиця 2.1 – Групи піддослідних тварин

Група	Кількість тварин n	Метод корекції травми
I група	12	Без змодельованої патології
II група	40	Тварини зі змодельованим гострим пародонтитом без корекції
III група	40	Тварини з пародонтитом, яким проводили корекцію із використанням мезенхімальних стовбурових клітин людини
Контрольна	40	Тварини з пародонтитом, яким проводили корекцію із використанням міогенних стовбурових клітин щура

Ефективність корекції з використанням стовбурових клітин вивчали на моделі пародонтиту, викликаного уведенням ліпополісахариду (ЛПС) в тканини ясен по 40 мікролітрів (1мг/мл) через день протягом 14-ти діб. Через 1-шу, 7-му, 14-ту і 21-шу доби після останнього уведення ЛПС щурів декапітулювали під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Контролем слугував матеріал від інтактних тварин. Дизайн проведеного дослідження показано у таблиці 2.2.

Таблиця 2.2 – Дизайн дослідження

Етапи дослідження	Методи дослідження	Кількість тварин	Терміни дослідження
1	2	3	4
Відпрацювання методики отримання мезенхімальних стовбурових клітин з пуповинної крові людини	Виділення клітин з пуповинної крові		
	Оцінка життєздатності клітин		
	Морфологія клітин в культурі		
	Імуноцитофлюорометричний аналіз клітин		
Відпрацювання методики отримання м'язових стовбурових клітин щура	Виділення клітин з м'язової тканини щура		21-ша – 24-та доба дослідження
	Оцінка життєздатності клітин		
	Морфологія клітин в культурі		
	Імуноцитофлюорометричний аналіз клітин		
Апробування моделі гострого пародонтиту з використанням ліпополісахариду	Оцінка перебігу змодельованого пародонтиту	40 щурів	1-ша – 21-ша доби експерименту
	Оцінка ПОЛ та АОС		1-ша, 7-ма, 14-та, 21-ша доба експерименту
	Оцінка маркерів ендогенної інтоксикації		
	Оцінка маркерів неспецифічної і специфічної ланок імунного захисту		
	Визначення вмісту цитокінів сироватки крові		
	Вивчення стану системи протеїнази/інгібітори протеїназ		
	Гістологічне дослідження тканин пародонта		

Продовження таблиці 2.2

1	2	3	4
Дослідження ефективності використання мезенхімальних стовбурових клітин пуповинної крові для корекції експериментального гострого пародонтиту у щурів	Оцінка перебігу посттравматичного періоду	40 щурів	1-ша -21-ша доба експерименту
	Оцінка ПОЛ та АОС		1-ша, 7-ма, 14-та, 21-ша доба експерименту
	Оцінка маркерів ендогенної інтоксикації		
	Оцінка маркерів неспецифічної і специфічної ланок імунного захисту		
	Оцінка вмісту цитокінів сироватки крові		
	Вивчення стану системи протеїнази/інгібітори протеїназ		
	Гістологічне дослідження тканин пародонта		
Дослідження ефективності використання міогенних МСК щура для корекції експериментального гострого пародонтиту у щурів	Гістологічне дослідження тканин пародонта	40 щурів	7-ма, та 21-ша доби експерименту
Контрольна група (тварини без змодельованої патології)	Оцінка ПОЛ та АОС	12 щурів	
	Оцінка маркерів ендогенної інтоксикації		
	Оцінка маркерів неспецифічної і специфічної ланок імунного захисту		
	Визначення вмісту цитокінів сироватки крові		
	Вивчення стану системи протеїнази/інгібітори протеїназ		
	Гістологічне дослідження тканин пародонта		

2.2 Методика отримання мезенхімальних стовбурових клітин

Виділення МСК і дослідження їх характеристик проведені співробітниками лабораторії клітинних культур сектору експериментальних та клінічних досліджень міжкафедральної навчально дослідної лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського під керівництвом кандидата медичних наук, доцента Довгалюк А. І.

Для експерименту з дослідження регенерації під впливом стовбурових клітин використовували МСК, виділені із підшкірної м'язової тканини плодів щурів (міогенні МСК). Вирощування клітин здійснювали у CO₂-інкубаторі за температури 37 °С та 5 %-вої концентрації CO₂ до утворення конфлюенту 90–100 %.

Для цього з культурального флакона з 90 % конфлюентом міогенних МСК відбирали кондиційне середовище і промивали клітини буферним розчином HBSS (Gibco). Для відкріплення клітин від дна культурального флакону використовували ферментний препарат Tryple (Gibco) та інкубували 5 хв при 37 °С. Дію дисоціуючого розчину нейтралізували кондиційним середовищем.

Далі клітинну суспензію переносити у центрифужну пробірку і осаджували МСК впродовж 8 хв при 1700 об/хв. Отриманий осад розчиняли в 1 мл розчину HBSS і повторно відцентрифугували клітини за тих самих умов. Далі осад розчиняли у фізіологічному розчині, отриману клітинну суспензію профільтровували через сито з діаметром пор 100 мкм і підраховували кількість виділених клітин за допомогою гемоцитометра – камери Горяєва.

Для оцінки життєздатності отриманих клітин проводили тест на включення суправітального барвника методом фарбування 0,1 % розчином трипанового синього [183, 184]. До 0,1 мл суспензії клітин додавали 1 мл

розчину барвника, фарбування проводилося в термостаті при температурі +37 °С протягом десяти хвилин. Ступінь зафарбованості контролювали під мікроскопом. Підрахунок числа живих клітин здійснювали в камері Горяєва за допомогою світлового мікроскопа. Нежиттєздатні клітини з пошкодженою мембраною мали синє забарвлення цитоплазми. Під мікроскопом підраховували загальну кількість клітин, в тому числі забарвлених клітин в 25 «великих» квадратах камери Горяєва. Подальший підрахунок клітин проводили за формулою:

$$X = N \times S \times 10000, \quad (2.1)$$

де X – кількість клітин в 1 мл суспензії,

N – кількість клітин в 25 великих квадратах,

S – кратність розведення суспензії барвником.

Відсотковий вміст живих клітин (K) підраховували за формулою:

$$K = \frac{\text{Загальна кількість клітин} - \text{кількість мертвих клітин}}{\text{Загальна кількість клітин}} \times 100 \%$$

Експериментальним тваринам вводили мезенхімальні стовбурові клітини разовою ін'єкцією з розрахунку 1 млн. клітин на 1кг маси тіла. Для максимального збереження життєздатності клітин введення МСК здійснювали протягом 30 хвилин після отримання суспензії.

2.3 Методи дослідження процесів ліпопероксидації та стану антиоксидантного захисту

2.3.1 Оцінка продукції активних форм кисню моноцитами крові методом проточної лазерної цитометрії

Отримання моноцитів із крові щурів. У стерильні пробірки з 3 % розчином Na_2EDTA забирали 4-5 мл крові (співвідношення 1 частина Na_2EDTA і 20 частин крові). З метою осадження еритроцитів й отримання

лейкоцитарної суспензії у пробірку додавали 10 % розчин желатину в співвідношенні 10:1 та відстоювали 30 хв при температурі 37 °С. Виділений лейкоцитарний завис одноразово відмивали 0,85 % розчином натрій хлориду, центрифугуючи 10 хв при 1500 об/хв. Популяцію моноцитів отримували за допомогою центрифугування на подвійному градієнті щільності 1,077 і 1,093 фіколу-верографіну. Після 40 хв центрифугування при температурі 4 °С і швидкості 1500 об/хв. утворювалися дві інтерфази. Верхня інтерфаза (на межі плазма-фікол щільністю 1,077) складалася з моноклеарних клітин – 80 % лімфоцитів, 15-18 % моноцитів та незначного (2-3 %) додатка гранулоцитів. Розділення лімфоцитів та моноцитів здійснювали методом ізокінетичного центрифугування протягом 5 хв при 400 об/хв. у градієнті фіколу-верографіну щільністю 1,060. Клітини акуратно збирали, переносили в стерильні центрифужні пробірки, тричі відмивали стерильним 0,85 % розчином натрій хлориду.

Відсоток життєздатних клітин оцінювали в камері Горяєва за реакцією з трипановим синім, таким чином життєздатними вважали абсолютно незабарвлені клітини. Здорові життєздатні моноцити найчастіше мають круглу форму, розмір 12-20 мкм, ядро блідо-фіолетового кольору, що займає більшу або рівну з цитоплазмою частину клітини, чітко окреслену плазматичну мембрану. Цитоплазма сірувато-блакитнувата, може містити азурофільну зернистість і вакуолі. Пошкоджені клітини забарвлюються вітальним барвником, мають темно-синій колір і неправильну форму. Використовували клітинні суспензії, ступінь забарвленості клітин в яких не перевищував 5 %.

Для визначення рівня активних форм кисню (АФК) у клітинах застосовували дихлорфлюоресцеїну діацетат (ДХФ-ДА) («Sigma Aldrich»), котрий є барвником із заблокованою флуоресценцією. Внаслідок пасивного проникнення у клітину та відщеплення ацетатної групи під дією естераз ДХФ-ДА переходить в полярну сполуку, що не спроможна до дифузії з

клітини. Внаслідок взаємодії з H_2O_2 та іншими вільними радикалами ДХФ-ДА стає флуоресціюючою сполукою.

В стерильну полістеринову пробірку поміщали 90 мкл суспензії мононуклеарних лейкоцитів (2×10^6 клітин в 1 мл) і 10 мкл робочого розчину ДХФ-ДА. Дані клітини ресуспендували й інкубували протягом 20 хв при 37°C . Після цього центрифугували при 1000 об/хв 10 хвилин, зливали надосад та додавали 400 мкл ФСБ. Проби розміщували на лід, рівень продукції АФК аналізували за інтенсивністю світіння барвника (FL-1 канал) на проточному цитометрі Epics XL («Beckman Coulter»). Рівень досліджуваного параметра оцінювали в умовних одиницях (інтенсивність світіння на клітину).

2.3.2 Визначення вмісту гідропероксидів ліпідів

Концентрацію гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) визначали за методом [185], який базується на тому, що екстраговані гептан-ізопропіловою сумішшю гідропероксили ліпідів мають відповідний максимум поглинання при $\lambda = 232$ нм.

До 0,2 мл плазми крові додавали 4 мл суміші гептан-ізопропанолу (1:1) і струшували 15 хв на лабораторному струшувачі АВ-30 с. Після цього у пробірки додавали по 1 мл розчину HCl ($\text{pH}=2,0$) та 2 мл гептану, активно струшували та після відстоювання та розшарування суміші (через 30 хв) відбирали гептановий шар та визначали його оптичну щільність на спектрофотометрі СФ-46 при $\lambda=232$ нм. В якості контролю застосовували пробу, що містила 0,2 мл дистильованої води замість досліджуваного матеріалу. Обчислення вмісту ГПЛ здійснювали у відносних одиницях за формулою:

$$C = 10 \cdot E \cdot V_1/V_2 \text{ ум. од./мл (для плазми)} \quad (2.2)$$

де E – оптична щільність гептанового шару проби,

V_1 – кінцевий об'єм гептанового екстракту (4 мл),

V_2 – об'єм досліджуваного матеріалу (2 мл).

Вміст ГПЛ позначали в ум.од./л в плазмі крові та ум.од./кг у гомогенаті.

2.3.3 Метод визначення вмісту ТБК-реагуючих продуктів

Зазначений методу полягає в здатності ТБК-реагуючих продуктів при взаємодії з тіобарбітуровою кислотою у кислому середовищі утворювати забарвлений комплекс, інтенсивність якого адекватна вмісту ТБК-реагуючих продуктів. Визначали вміст ТБК-реагуючих продуктів у плазмі або 10 % гомогенаті [186].

В центрифужні пробірки наливали по 1 мл дистильованої води, 1 мл 10 % гомогенату або 0,5 мл плазми, 2 мл 30 % р-ну трихлороцтової кислоти, 0,2 мл 5 моль р-ну HCl, 2 мл тіобарбітурової кислоти та витримували 15 хв на водяній бані при 100 °С. Дані проби охолоджували, осад відділяли центрифугуванням при 3000 об./хв. Після цього їх центрифугували 10 хв та вимірювали оптичну щільність верхньої фази на спектрофотометрі при $\lambda = 535$ нм проти води. Обчислення виконували, враховуючи коефіцієнт молярної екстинкції для ТБК-реагуючих продуктів, котрий дорівнює $1,56 \cdot 10^5$ моль \cdot см⁻¹.

Виразали активність у мкмоль/л в плазмі крові та мкмоль/кг у гомогенаті.

2.3.4 Визначення вмісту основ Шиффа

Даний метод базується на встановленні вмісту продуктів основ Шиффа за поглинанням ліпідним екстрактом монохроматичного світлового потоку в ультрафіолетовій ділянці спектра. Екстрагуються ШО у гептан-ізопропанольних фракціях. Зважаючи на те що в гептані екстрагуються в основному нейтральні ліпіди, а в ізопропанолі – фосфоліпіди, тому гептанова

фракція свідчить про активність ПОЛ у нейтральних ліпідах, а ізопропанольна – у фосфоліпідах.

В подальшому до 0,1 мл плазми крові додавали 8 мл гептан-ізопропанольної суміші у співвідношенні 1:1, струшували протягом 15 хв та центрифугували при 6000 об/хв упродовж 10 хвилин. Після цього ліпідний екстракт переносили у чисту пробірку та додавали 5 мл гептан-ізопропанольної суміші в співвідношенні 3:7, далі в пробірку додавали 2 мл 0,01 N водного розчину хлоридної кислоти для розділення фаз та видалення неліпідних домішок. В результаті поділу фаз верхню (гептанові) переносили у чисту пробірку, а до нижньої додавали 1 г натрій хлориду для зневоднення ізопропанольного екстракту, котрий переносили в чисту пробірку. Вимірювання оптичної щільності (E) проводили на спектрофотометрі проти відповідного контролю при довжинах хвиль 232 та 275 нм та виражали у відносних одиницях [187].

2.3.5 Визначення супероксиддисмутазної активності в гемолізаті еритроцитів

Супероксиддисмутазну активність визначали за методом [188, 189]. З метою проведення аналізу відбирали 0,1 мл крові та розводили 5 мМ тріс-буферним розчином, рН 7,4 в співвідношенні 1:9. В подальшому із отриманого гемолізату осаджували гемоглобін методом додавання 0,25 мл етанолу та 0,15 мл хлороформу. Потім суміш охолоджували до -30°C . Після здійснення заморожування гемолізат ретельно перемішували і надалі центрифугували при 3000 об/хв упродовж 15 хв. З метою видалення гемоглобіну та хлороформу. Прозорий супернатант використовували для визначення активності СОД.

В подальшому до 0,2 мл супернатанту додавали 1,3 мл пірофосфатного буферу (рН=8,3), молярна концентрація котрого 0,1 моль/л, 1 мл розчину нітротетразолію синього, 0,3 мл розчину феназинметасульфату та 2 мл

розчину НАД·Н, молярна концентрація котрого 0,2 ммоль/л. Дані проби протягом 10 хв витримували у темноті та фотометрували (СФ-46, 540 нм) у 1 см кюветі проти проб, до котрих не додавали НАД·Н. Контролем слугували проби, у котрих замість гомогенату знаходилося 0,2 мл фосфатного буферу. Тоді активність ферменту розраховували за формулами: спочатку судили за його здатністю інгібувати відновлення нітротетразолію синього та відсоток інгібування розраховували за формулою:

$$T = (E_k - E_d) \times 100 / E_k, \quad (2.3)$$

де T – відсоток інгібування;

E_k – екстинкція контрольної проби;

E_d – екстинкція дослідної проби.

Після чого розраховували активність ферменту за формулою:

$$A_{\text{сод}} = T / (100 \% - T) / C, \quad (2.4)$$

де $A_{\text{сод}}$ – активність СОД;

T – відсоток інгібування;

C – концентрація білка у цільній крові.

Активність ферменту виражали в умовних одиницях на 1 мг білка в цільній крові.

2.3.6 Визначення каталазної активності гемолізаті еритроцитів

Каталазну активність визначали спектрофотометричним методом [190]. Принцип методу базується на здатності фермента високо-ефективно каталізувати реакцію розкладання пероксиду водню на воду та кисень. Робота складалася з 3-ох етапів.

Етап 1. Отримання еритроцитів. Дані клітини отримували з цільної крові шляхом центрифугування на центрифугі при 1500 об/хв впродовж 15 хв. Далі сироватку відбирали за допомогою пастерівської піпетки, додавали до еритроцитів рівний обсяг 0,9 % розчину NaCl та повторно центрифугували

у тому ж режимі. Дану процедуру відмивання повторювали тричі. Після цього 2 мл еритроцитів розводили 0,9 % розчином NaCl в співвідношенні 1:1000 до значень оптичної щільності $D = 0,7$ при 410 нм, що співвідносна концентрації $1,5 \times 10^8$ кл/мл.

Етап 2. Отримання гемолізату еритроцитів, вільного від гемоглобіну. В даному етапі до 0,5 мл еритроцитів додавали 0,5 мл бідистильованої води з метою порушення цілісності еритроцитарних мембран та залишали на холоді впродовж 15-20 хв. Після цього гемоглобін осаджували хлороформ-етаноловою сумішшю (1:5). З цією метою до 1 мл гемолізату додавали 200 мкл хлороформ-етанолової суміші. Далі гемолізат центрифугували впродовж 10 хв при 3000 об/хв. Потім відбирали супернатант і у ньому визначали активність каталази, попередньо розбавивши його бідистильованою водою в співвідношенні 1:10.

Етап 3. Визначення каталазної активності. Реакційна суміш містила наступні розчини: 1) фосфатний буфер (0,01 моль/л), рН 6,7 – 0,5 мл; 2) етилендіамінтетраацетат натрію (Na_2EDTA) (10^{-4} моль/л) – 0,5 мл; 3) пероксид водню (0,015 моль/л) – 2 мл; 4) досліджуваний зразок – 0,1 мл.

З метою визначення активності каталази у контрольну та дослідну проби, котрі містять досліджуваний ферментний розчин, додавали фосфатний буфер, пероксид водню і Na_2EDTA . Після цього пробірки залишали на 10 хв при кімнатній температурі, попередньо зупинивши реакцію у контрольній пробі додаванням 1 мл 10 % розчину сульфатної кислоти. Зазначений об'єм сульфатної кислоти додавали в дослідну пробу по закінченні інкубації. Таким чином каталазну активність визначали на спектрофотометрі при довжині хвилі 250 нм.

Холоста проба для врахування спонтанної реакції розкладання пероксиду водню відрізняється тим, що замість зразка, котрий містить каталазу, в неї додають такий же об'єм фосфатного буфера.

В якості одиниці активності (А) приймали таку кількість (в молях) пероксиду водню, котрий розклався при інкубації у одиницю часу:

$$A = \frac{\Delta D \cdot V_1 \cdot c_1 \cdot n}{D_x \cdot V_2 \cdot c_2 \cdot t}, \quad (2.5)$$

де ΔD – різниця оптичної щільності дослідної та контрольної проб;

D_x – оптична щільність холостої проби;

V_1 – загальний об'єм інкубаційної суміші;

V_2 – об'єм досліджуваного зразка;

c_1 – концентрація H_2O_2 ;

c_2 – концентрація білка в пробі;

n – фактор розведення;

t – час інкубації.

В подальшому результати виражали у моль/хв. на 1 мг білка.

2.3.7 Визначення концентрації церулоплазміну

Концентрацію церулоплазміну проводили колориметричним методом [191]. Суть методу заснований на тому, що окислення пара-фенілендіаміну у присутності церулоплазміну зумовлює утворення забарвлених продуктів. Кількість церулоплазміну прямо пропорційна інтенсивності забарвлення.

Досліджували плазму крові без слідів гемолізу. За даною методикою в пробірки вносили по 0,1 мл сироватки крові. Тоді у контрольну пробірку додавали 1 мл 0,5 % розчину гідроксиламіну солянокислого для інактивації ферменту. В подальшому у всі пробірки додавали по 8 мл розчину ацетатного буферу з молярною концентрацією 0,4 моль/л (рН 5,5) та по 1 мл пара-фенілендіаміну. Далі пробірки закривали корками та витримували у термостаті при 37 °С 1 год. Далі в кожному пробірку, окрім контролю, додавали по 1 мл гідроксиламіну солянокислого. Після цього проби витримували 30 хв при 4 °С і тоді визначали їх оптичну густину проти контролю на спектрофотометрі СФ-46 при 530 нм. Розрахунок проводили за формулою:

$$C = E \times 875, \quad (2.6)$$

де C – концентрація церулоплазміну в мг/л;

E – екстинкція проби.

2.3.8 Визначення концентрації відновленого глутатіону

Принцип даного методу ґрунтується на тому, що при взаємодії 5,5'-дитіобіс(2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) з вільними SH-групами відновленого глутатіону відбувається утворення тіонітрофенільного аніону, кількість якого прямо пропорційна вмісту SH-груп [192].

До 0,2 мл крові або вологи передньої камери додавали 1,6 мл H_2O_2 та 0,2 мл 25 % сульфосаліцилової кислоти. Тоді центрифугували 15 хв при 3000 об/хв, після цього до 0,5 мл центрифугату додавали 2,5 мл 0,2 М тріс-буферу (рН = 8,4) та 0,05 мл 0,04 % розчину реактиву Елмана. В подальшому в контрольну пробірку замість досліджуваного матеріалу вносили 0,2 мл води. Тоді через 10 хв проби фотометрували на спектрофотометрі СФ-46 при 412 нм проти контролю. Концентрацію ВГ розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції для тіонітрофенільного аніону, котрий дорівнює $11400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

2.3.9 Визначення глутатіонпероксидазної активності у крові (ГП, КФ. 1.11.1.9)

Глутатіонпероксидазну активність визначали за методом, зазначеним у роботі [193]. До 0,3 мл лізату еритроцитів (1:10) додавали 0,5 мл 0,25 М тріс-буферу (рН = 7,4), 0,1 мл 25 мМ Na_2EDTA , 0,1 мл 0,4 М азиду натрію. Тоді суміш інкубували 5 хв при кімнатній температурі, після цього додавали 0,3 мл 50 мМ розчину відновленого глутатіону. Далі реакцію починали, додаючи 0,1 мл 50 мМ H_2O_2 . Через 1 хв реакцію зупиняли 1 мл 10 % розчину метафосфорної кислоти. Далі суміш центрифугували та в центрифугаті визначали кількість відновленого глутатіону [194]. Тоді ферментну активність розрахо-

ували за різницею між кількістю відновленого глутатіону в контрольній (без H_2O_2) та дослідній пробах і виражали в ммольх $GSH/(xv \times мл)$.

2.3.10 Визначення глутатіонредуктазної активності в крові (ГР, КФ.1.6.4.2)

Глутатіонредуктазну активність розраховували за кількістю НАДФН, які витрачається в ферментній реакції відновлення окисненого глутатіону [194].

Після цього середовище, яке містило 0,4 мл 0,25 М тріс-буферу (рН = 7,4), 0,1 мл 25 мМ Na_2EDTA , 0,1 мл 7,5 мМ НАДФН, 0,5 мл 8 мМ окисненого глутатіону, інкубували при 37 °С 10 хв, тоді вносили 0,1 мл лізату еритроцитів (1:10) та суміш знову інкубували 10 хв при 37 С. Тоді реакцію зупиняли, додаваючи 2,8 мл охолодженого метанолу. При цьому готували контрольну пробу, в котрій гомогенат вносили після метанолу. Далі проби центрифугували та в центрифугаті спектрофотометрично (СФ-46, 340 нм) визначали кількість НАДФ·Н ($6,22 \cdot 10^3 \cdot M^{-1} \cdot cm^{-1}$). При цьому ензимну активність розраховували за різницею між кількістю НАДФ·Н у контрольній та дослідній пробах і виражали у ммольх $НАДФ \cdot Н / (xv \times мл)$.

2.3.11 Визначення загальної антиоксидантної активності плазми крові

Принцип методу. Загальну антиоксидантну активність (ЗААП) плазми крові визначали методом, який базується на гальмуванні сироваткою крові пероксидного окиснення ліпідів головного мозку щурів.

На льоду готували 5 %-вий гомогенат головного мозку щура на тріс- HCl -буфері, рН 7,4 (500 мг мозку гомогенізували у 9,5 мл буферу), центрифугували 10 хв при 3000 об/хв. Одержаний центрифугат (2 мл) вносили в центрифужні пробірки об'ємом 10 мл. В дослідні проби добавляли 0,1 мл плазми крові, а в контрольні – 0,1 мл буферу. Пробі інкубували 60 хв

у водяному термостаті при 37 °С після чого реакцію зупиняли, вносячи в проби по 2 мл охолодженої 10 %-ної трихлороцтової кислоти. Проби центрифугували (10 хв при 3000 об/хв) і в одержаному центрифугаті визначали вміст малонового альдегіду. Для цього в хімічні пробірки вносили 3 мл центрифугату, 1 мл 0,8 %-вої тіобарбітурової кислоти і ставили в кип'ячу водяну баню на 15 хв. Після охолодження вимірювали оптичну густину контрольних і дослідних проб на спектрофотометрі СФ-46 при 532 нм в 10 мм кварцових кюветах. Загальну антиоксидантну активність плазми крові (ЗААП) виражали у відсотках і розраховували за формулою:

$$\text{ЗААП (\%)} = \frac{D_k - D_d}{D_k} \times 100 \quad (2.7)$$

де D_k – оптична густина контрольної проби;

D_d – оптична густина дослідної проби.

2.4 Визначення показників ендогенної інтоксикації

Рівень ендогенної інтоксикації оцінювали за вмістом молекул середньої маси (МСМ) у плазмі крові, визначенням еритроцитарного (ЕІІ) індекса інтоксикації та циркулюючих імунних комплексів (ЦІК).

2.4.1 Визначення вмісту молекул середньої маси

Визначення вмісту молекул середньої маси (МСМ) проводили згідно з методикою [195, 196].

В ході даного методу із сироватки крові виділяли кислоторозчинну фракцію, котру отримували шляхом додавання до 0,2 мл сироватки 1,8 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти. Після цього наступне центрифугування здійснювали при 3000 об./хв впродовж 30 хв. Тоді виділену фракцію в об'ємі 0,5 мл розводили дистильованою водою в співвідношенні 1:10 та визначали оптичну густину при довжині хвилі 254 нм (визначаються

ланцюгові амінокислоти) і 280 нм (визначаються ароматичні амінокислоти) проти дистильованої води на спектрофотометрі СФ-46; результати методу виражали в умовних одиницях, чисельно рівних показникам екстинкції.

2.4.2 Визначення еритроцитарного індекса інтоксикації (ЕІІ)

В основі методу [197] є уявлення про еритроцит як універсальний адсорбент. В пробірку, яка містила 1 мл 3,8 % розчину цитрату натрію, відбирали 4 мл крові, перемішували і відділяли еритроцити шляхом центрифугування протягом 10 хв при 3000 об./хв. Після цього плазму видаляли. Тоді 1 мл еритроцитарної маси переносили у пробірку, котра містила 3 мл розчину метиленового синього (0,025 %), приготовленого на фізіологічному розчині. Далі перемішували та інкубували впродовж 10-12 хв при кімнатній температурі. Тоді центрифугували впродовж 10 хв при 3000 об./хв. Після цього надосадову рідину переносили у кювету спектрофотометра. Далі проводили визначення оптичної густини вихідного розчину та надосадової рідини в одиницях екстинкції колориметричним методом по відношенню до фізіологічного розчину при довжині хвилі 630 нм. Тому кількість поглинутого барвника (у відсотках) вираховували за формулою:

$$A = 100 - C \times 100 / B, \quad (2.8)$$

де А – кількість поглинутого барвника, %;

В – оптична густина вихідного розчину, ум. од. екстинкції;

С – оптична густина розчину барвника після інкубації з еритроцитами, ум. од. екстинкції.

2.4.3 Визначення вмісту циркулюючих імунних комплексів

Вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в сироватці крові визначали преципітацією їх розчином поліетиленгліколю-6000 [198,199]. Після цього до 0,3 мл сироватки додавали 0,6 мл 0,1 М боратного буферу

(рН = 8,4). Далі суміш розливали у 2 пробірки по 0.3 мл та додавали до 1-ї пробірки 2,7 мл боратного буферу, а до 2-ї – 2,7 мл розчину поліетиленгліколю-6000 (10 г ПЕГ в 240 мл боратного буфера). Тоді проби інкубували 60 хв при кімнатній температурі та фотометрували на спектрофото-метрі при $\lambda=450$ нм. Та розрахунок кількості ЦК проводили за формулою:

$$\text{ум. од.} = (E_d - E_k) \times 1000, \quad (2.9)$$

де E_d – екстинкція вмісту 2-ої пробірки;

E_k – екстинкція вмісту 1-ої пробірки.

2.5 Вивчення стану системи протеїнази/інгібітори протеїназ

2.5.1 Визначення загальної протеолітичної активності плазми крові

Визначення загальної протеолітичної активності плазми крові проводили за лізисом азоальбуміну, азоколу та азоказеїн за допомогою набору реактивів «Simko Ltd» (Україна) за методом [200], котрий базується на тому, що при інкубації білкових азосполук в присутності активаторів і інгібіторів протеолізу, котрі містяться в тканинах, відбувається лізис азоальбуміну (розпад низькомолекулярних протеїнів), азоказеїну (розпад високомолекулярних протеїнів) та азоколагену (колагеноліз), інтенсивність котрого оцінювали за ступенем забарвлення інкубаційного середовища на спектрофотометрі при довжині хвилі 440 нм. Таким чином протеолітичну активність визначали в одиницях екстинкції на 1 мл плазми за 1 годину.

2.5.2 Визначення вмісту $\alpha 2$ -макроглобуліну

Вміст $\alpha 2$ -макроглобуліну ($\alpha 2$ -МГ) визначали за методом, суть котрого полягає у тому, що $\alpha 2$ -МГ утворює із трипсином активний комплекс, котрий є нечутливим до дії інгібітору з бобів сої. При виконанні методики використовували трипсин («Srofa», Чехія) [201]. За даним методом

концентрацію α_2 -МГ визначали за калібрувальним графіком, у котрому по осі абсцис відкладали кількість трипсину, а по осі ординат – оптичну щільність проб, у котрих відбувся гідроліз N-бензоїл-DL-аргінін-пара-нітроаніліду (БАПНА) відповідною концентрацією трипсину. Таким чином концентрацію α_2 -МГ виражали у г/л в сироватці крові [202].

2.5.3 Визначення вмісту α_1 -інгібітора протеаз

Визначення вмісту α_1 -інгібітора протеаз (α_1 -ІП) у сироватці крові проводили методом, суть котрого полягає на здатності α_1 -ІП сироватки крові пригнічувати гідроліз трипсином БАПНА. А також трипсин у комплексі з α_2 -МГ здатний розщеплювати БАПНА. Вміст α_1 -інгібітора протеаз визначали за різницею між відомою кількістю трипсину та кількістю ферменту, що залишився після його взаємодії із інгібіторами плазми. Вміст α_1 -інгібітора протеаз визначали за калібрувальним графіком, у котрому по осі абсцис відкладено кількість трипсину (1 – 10 мкг), а по осі ординат – оптична щільність проб, у котрих відбувся гідроліз БАПНА відповідною концентрацією трипсину. Вміст α_1 -І інгібітора протеаз у сироватці крові виражали в мкмоль/л [203].

Розраховували (ІП), котрий відображає напруженість або «керованість» протеолітичних процесів, як відношення ЗПА до сумарної інгібіторної ємності (сума активності α_1 -ІП і α_2 -МГ) [204].

2.6 Методи дослідження імунного статусу

2.6.1 Дослідження тесту з нітросинім тетразолієм (НСТ-тест)

Бактерицидна дія фагоцитуючих клітин визначається за допомогою тесту відновлення нітросинього тетразолію, який базується на здатності відновлення поглинутого фагоцитом розчинного барвника нітросинього тетразолію в нерозчинний диформазан, який розподіляється в цитоплазмі або на поверхні фагоцитів у вигляді гранул, зафарбованих у темно-синій колір,

під впливом супероксиданіону, що утворюється в НАДФН-оксидазній реакції. Цей тест відображає ступінь активації кисень-залежного механізму бактерицидної активності фагоцитуючих клітин [205, 206].

Розрізняють два варіанти НСТ-тесту: спонтанний та активований. При постановці спонтанного НСТ-тесту фагоцити культивуються у присутності нітросинього тетразолію без попередньої активації клітин, при проведенні індукованого НСТ-тесту до середовища культивування додають активатор фагоцитарної реакції.

Клітинну суспензію моноцитів вносили у пробірку в кількості 0,1 мл, додавали 0,1 мл 0,1 % водного розчину нітросинього тетразолію та інкубували при температурі 37 °С протягом 40 хв з 0,1 мл фізіологічного розчину. Це спонтанний НСТ-тест.

Клітинну суспензію моноцитів вносили у пробірку в кількості 0,1 мл, додавали 0,1 мл 0,1 % водного розчину нітросинього тетразолію та інкубували при температурі 37 °С протягом 40 хв з 0,1 мл пірогеналу. Це активований НСТ-тест.

Реакцію оцінювали шляхом підрахунку 100 моноцитівна наявність у цитоплазмі гранул і зерен диформазау. В цитоплазмі клітин, позитивно реагуючих з НСТ, зафіксовано випадіння гранул формазау фіолетово-синього кольору. В цитоплазмі негативно реагуючих з НСТ клітин гранули формазау були відсутні.

Виводили відсоток диформазанпозитивних клітин (гранули барвника займають не менше ¼ частини цитоплазми) у спонтанному тесті та в активованому.

Для характеристики резервних можливостей кисень-залежного метаболізму визначали показник резерву (ПР) і коефіцієнт метаболічної активації (К).

$$\text{ПР} = \text{АВ} / \text{СВ}; \quad (2.10)$$

$$K = AB - CB / AB, \quad (2.11)$$

де АВ – % диформазан позитивних клітин в активованому тесті;

СВ – % диформазан позитивних клітин у спонтанному тесті.

2.6.2 Дослідження клітинного імунітету

Даний метод базується на взаємодії моноклональних антитіл, мічених флюоресцентною міткою, із поверхневими антигенами лімфоцитів. В кожную пробірку вносили 20 мкл антитіл (CD4⁺, CD8⁺, CD3⁺, CD20⁺) та ЕДТА, не торкаючись наконечником стінок пробірки. Далі зразки перемішували на вортексі та інкубували в темному місці 15-30 хв за кімнатної температури. Рекомендована кількість лейкоцитів – 3,5-9,4 Г/л. Тоді для лізису еритроцитів в кожную пробірку вносили по 500 мкл лізуючого розчину, струшували на вортексі та інкубували 10-15 хв за кімнатної температури. Після цього додавали до пробірок по 500 мкл буферного розчину.

Дані зразки аналізували на проточному цитометрі Epics-XL виробництва «Beckman Coulter».

2.6.3 Визначення вмісту імуноглобулінів класів А, М і G

Вміст імуноглобулінів сироватки крові вивчали методом твердофазового імуноферментного аналізу із використанням наборів реагентів «ELISA Kit for Kits Usen, Life Science Inc» відповідно до інструкцій фірми-виробника на імуноферментному аналізаторі «Multiscan FC» (Thermo Scientific, Фінляндія). Концентрацію імуноглобулінів виражали у г/л.

2.7 Методи дослідження цитокінового статусу

Стан системного та місцевого запального процесу оцінювали за параметрами TNF α , IL1 β , IL6. Концентрацію цитокінів вивчали методом твердофазового імуноферментного аналізу із використанням наборів

реагентів «ELISA Kit for Kits Usen, Life Science Inc» відповідно до інструкцій фірми-виробника на імуноферментному аналізаторі «Multiscan FC» (Thermo Scientific, Фінляндія).

За даним методом для визначення цитокінів у лунки стрипів, підготовлених до аналізу вносили по 250 мкл промиваючого розчину на 30 хвилин. Після цього видаляли рідину із лунок та вносили у лунки по 100 мкл розбавляючого розчину у робочій концентрації та 100 мкл сироватки щурів. Далі інкубували 120 хв при температурі 37 °С. Тоді видаляли вміст стрипів та 2 рази промивали лунки 250 мкл промиваючого розчину. Після цього додавали по 100 мкл кон'югату та інкубували 60 хв при температурі 37 °С. Тоді видаляли вміст стрипів та 3 рази промивали лунки по 250 мкл промиваючого розчину, вносили у лунки по 100 мкл субстратного розчину, інкубували в темному місці при кімнатній температурі, тоді вносили по 50 мкл зупиняючого реагенту і вимірювали при довжині хвилі 450 нм. Далі концентрацію TNF α , IL1 β , IL6 виражали у пг/мл.

Розраховували коефіцієнт деструктивності за формулою IL-1 β /TNF- α .

2.8 Методи патоморфологічних досліджень

Матеріалом для патоморфологічних досліджень стали тканини пародонта. Для здійснення гістологічного дослідження матеріал фрагменти фіксували в 10 %-му розчині забуференого нейтрального формаліну. Подальше проведення гістологічних препаратів здійснювалося згідно загальноприйнятих методик. Виготовлення серійних парафінових зрізів товщиною 4-6 мкм. проводилося на санному мікроскопі. Фарбування препаратів здійснювалося гематоксиліном та еозином, за якими вивчали характер морфологічних змін після травми. Для фото документації зображення з гістологічних препаратів виводили на монітор комп'ютера за допомогою мікроскопа NiconclipseC та цифрової відеокамери

(DigitalCameraSCMOS) за допомогою програмного забезпечення TourWiev при різних збільшеннях.

2.9 Методи статистичних досліджень

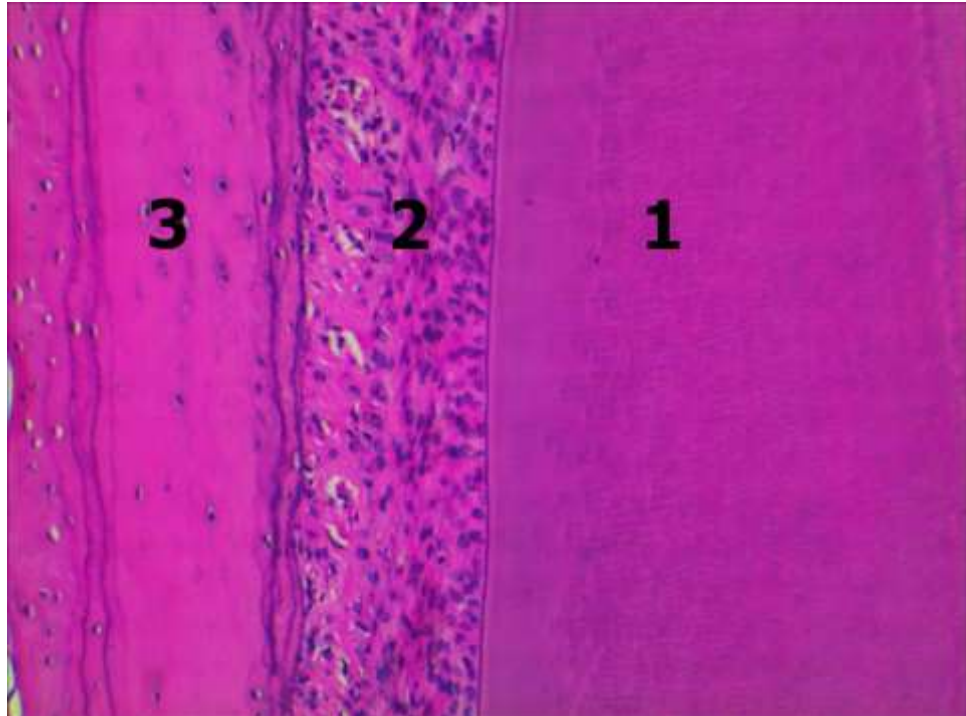
Статистичну обробку матеріалу здійснювали за допомогою персонального комп'ютера та прикладної програми для роботи з електронними таблицями Microsoft Excel за допомогою пакету «STATISTICA». Достовірність відміни пари середніх обчислювалась за допомогою критеріїв Стьюдента та Фішера. Графіки оформлювали за допомогою програм «Microsoft Excel 7.0» [207].

Статистичне опрацювання морфометричного аналізу проводили із використанням пакету програм SPSS-17. Безперервні дані представлені у вигляді середнього арифметичного (M) та середнього квадратичного відхилення (SD). Величини на нормальність розподілу перевіряли за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Відмінність вважали достовірною, якщо значення p не перевищувало 0,05 ($p < 0,05$).

РОЗДІЛ 3

СТАН СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ПАРОДОНТА У ЩУРІВ І ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН У ЙОГО КОМПОНЕНТАХ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ПАРОДОНТИТУ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ СТОВБУРОВИМИ КЛІТИНАМИ

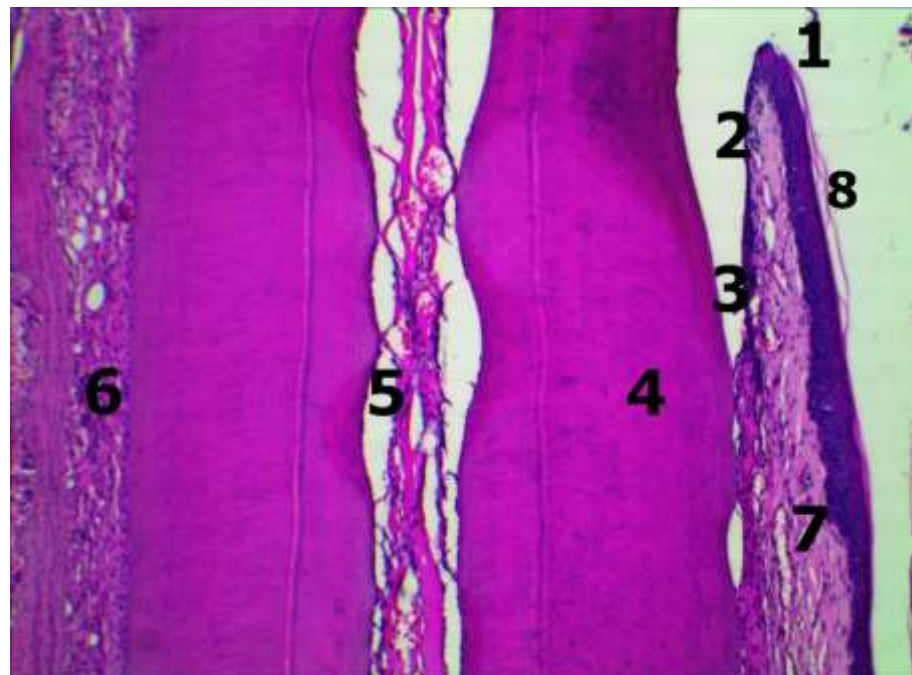
При аналізі гістологічних зрізів, зроблених із шматочків, що були забрані з ротової порожнини інтактних та контрольної групи щурів і які являли собою комплекс, що включав у свій склад зуб та оточуючі його тканини було встановлено типову будову пародонта. Для будови такого комплексу характерна наявність самого зуба (цемент, пульпова камера і сама пульпа, представлена судинами і нервами), періодонтальна зв'язка (пухка сполучна тканина, пронизана колагеновими і еластичними волокнами), кістка альвеолярного відростка щелепи і слизова оболонка ясен (рис. 3.1).



Умовні позначки: 1 – тканина зуба (цемент), 2 – періодонтальна зв'язка, 3 – кістка альвеолярного відростка щелепи.

Рисунок 3.1 – Гістологічна будова пародонта інтактного щура. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 140$

При цьому слизова оболонка ясен щільно прилягає до кістки альвеолярного відростка. Слизова оболонка також впритул підходить до тканин зуба. У місці контакту між слизовою оболонкою і самим зубом можна виділити лише неглибоку борозну. Причому епітелій, що повернутий до ротової порожнини дещо відрізняється від епітелію, повернутого до зуба. Межа між епітелієм, що вистеляє поверхню ясен зі сторони ротової порожнини і підлеглою сполучною тканиною має хвилясті контури за рахунок чергування випинань підслизової сполучнотканинної оболонки із зануреними у неї сосочками епітелію слизової, у той час як межа між епітелієм прилеглим до перідонтальної зв'язки (альвеолярний епітелій) і самою зв'язкою є більш прямолінійною (рис. 3.2).

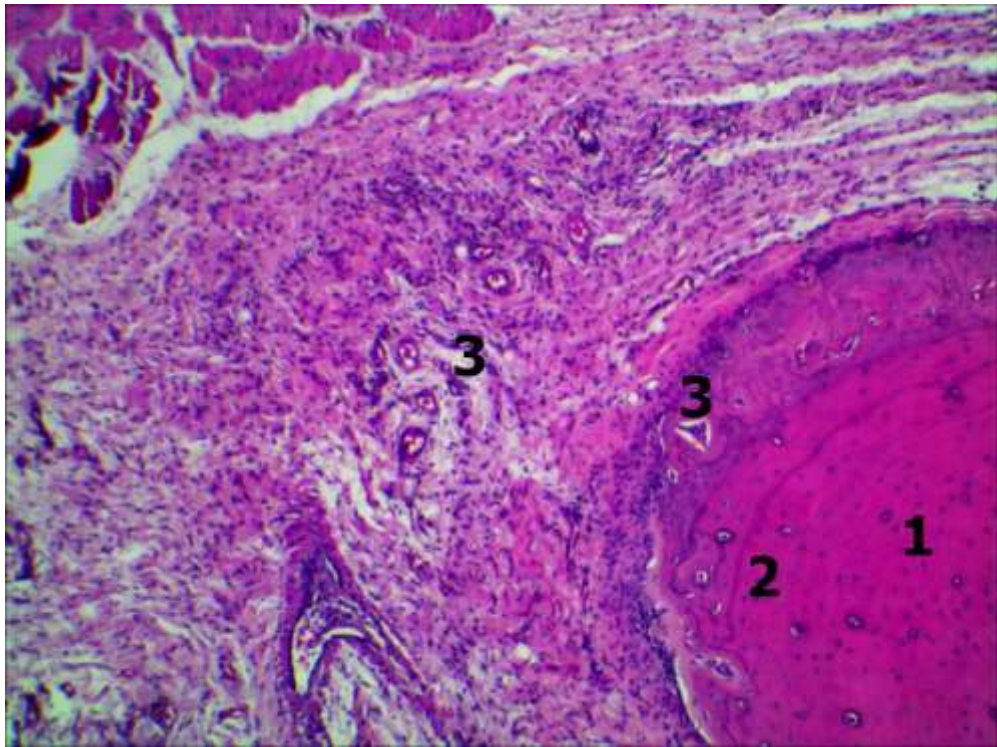


Умовні позначки: 1 – епітелій слизової зі сторони ротової порожнини, 2 – епітелій слизової зі сторони перідонтальної зв'язки, 3 – ясенна борозна, 4 – тканина зуба (цемент), 5 – канал зуба, заповнений елементами пульпи, 6 – кістка альвеолярного відростка щелепи, 7 – підслизова сполучна тканина ясен, 8 – злущення ороговівючого шару епітелію.

Рисунок 3.2 – Гістологічна будова пародонта інтактного щура. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 140$

Епітелій ясен зі сторони ротової порожнини являє собою плоский ороговіваючий епітелій у якому можна виділити наступні шари: базальний, шипуватий клітинний, зернистий клітинний і ороговілий. На відміну від цього альвеолярний епітелій не має ороговілого шару.

Кровоносне судинне русло представлене дрібними артеріями і артеріолами, а також окремими структурними компонентами, які входять до складу гемомікроциркуляторного русла. У просвіті судин іноді зустрічаються невеликі скупчення формених елементів крові (рис. 3.3).



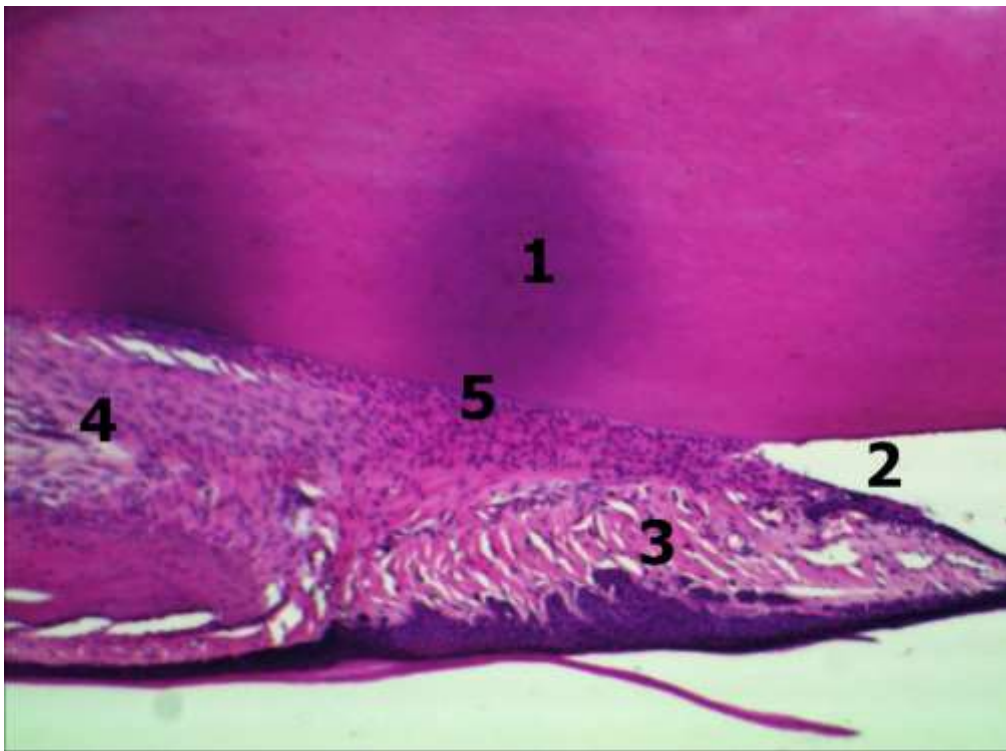
Умовні позначки: 1 – кістка альвеолярного відростка щелепи, 2 – внутрішньокісткові судини, 3 – судини м'яких тканин пародонта.

Рисунок 3.3 – Гістологічна будова пародонта інтактного щура. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 120$

Періодонтальна зв'язка представлена волокнистою сполучною тканиною. При морфометричному дослідженні встановлено, що товщина періодонтальної зв'язки у щурів коливається у межах 30-50 мкм.

У будові альвеолярної кістки також можна розрізнити два шари: більш щільний – спрямований до періодонтальної зв'язки і губчаста частина – розміщена у товщі між двома щільними шарами. У зовнішньому шарі кістки остеобласти разом з колагеновими волокнами утворюють окістя. У внутрішніх ділянках кістки ендост утворює острівкові зони, які також подібні до окістя. Товщина альвеолярної кістки біля верхівки кореня зуба сягає 250-350 мкм. По мірі підходження до коронки товщина альвеолярної кістки поступово зменшується.

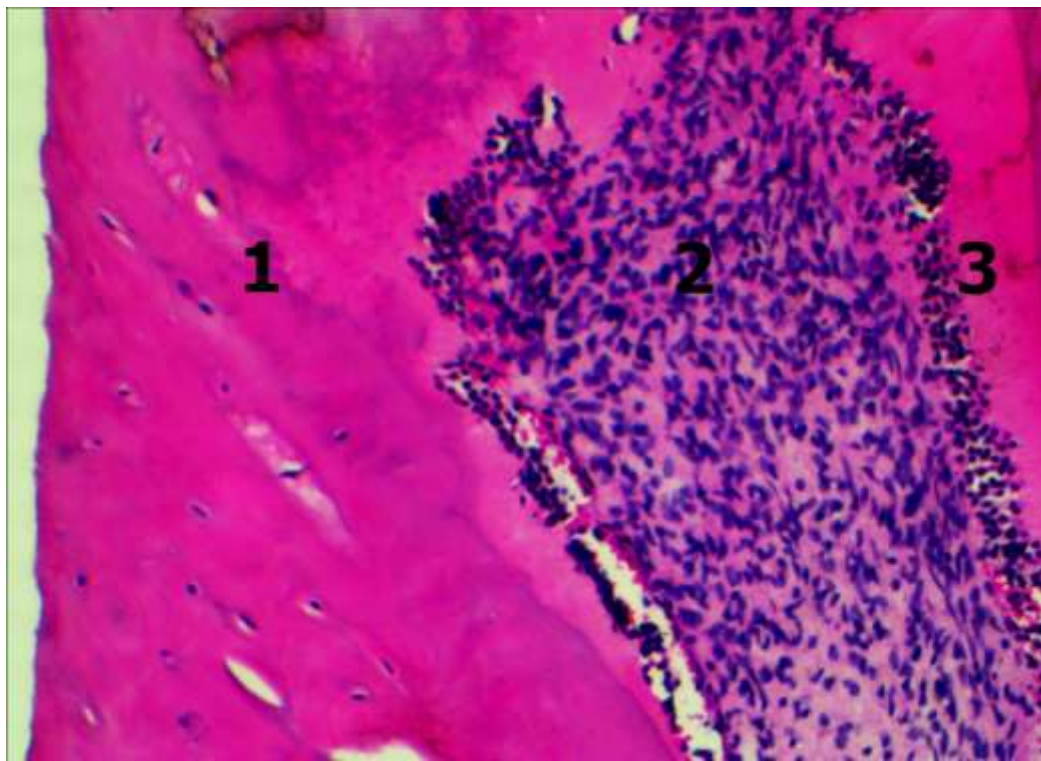
При моделюванні пародонтиту вже на 7-му добу експерименту переважно у м'яких тканинах визначалися чіткі ознаки запального характеру (рис. 3.4).



Умовні позначки: 1 – тканина зуба, 2 – формування пародонтальної кишені, 3 – набряк підслизової, 4 – набряк і потовщення періодонтальної зв'язки, 5 – поліморфноклітинний запальний інфільтрат.

Рисунок 3.4 – Гістологічна будова пародонта щура через 7 діб моделювання пародонтиту. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 140$

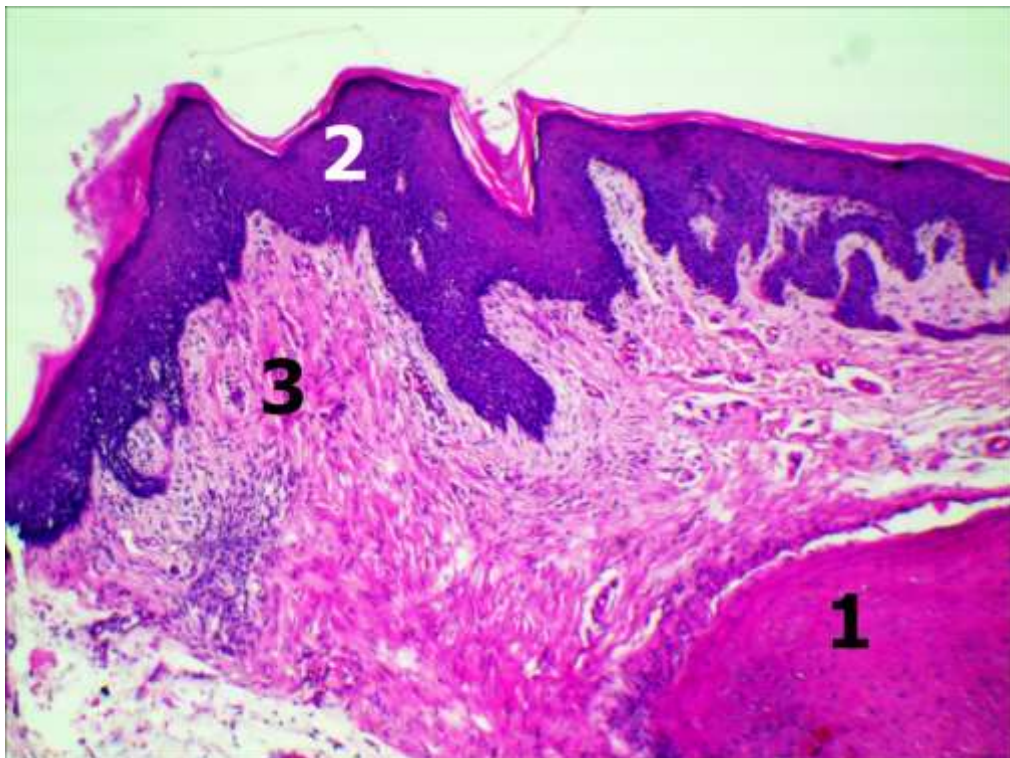
Вони проявлялися, у першу чергу, розширенням просвіту кровоносних судин і їх повнокров'ям, набряком як епітелію, так і підепітеліальної сполучної тканини, а також періодонтальної зв'язки, товщина якої збільшувалася майже вдвічі. Поглиблювалася і розширювалася ясенна борозна, формуючи пародонтальну кишеньку. У періодонтальній зв'язці, особливо у тій її частині, що безпосередньо прилягала до ясенної кишеньки спостерігалися вогнищеві поліморфноклітинні запальні інфільтрати. Інфільтрати іноді зустрічалися і у товщі кістки альвеолярного відростка щелепи з формуванням довкола них лімфо-лейкоцитарного валика і деструкцією самої кісткової тканини (рис. 3.5).



Умовні позначки: 1 – кістка альвеолярного відростка щелепи, 2 – поліморфноклітинний запальний інфільтрат з деструкцією кісткової тканини, 3 – запальний лімфо-лейкоцитарний валик.

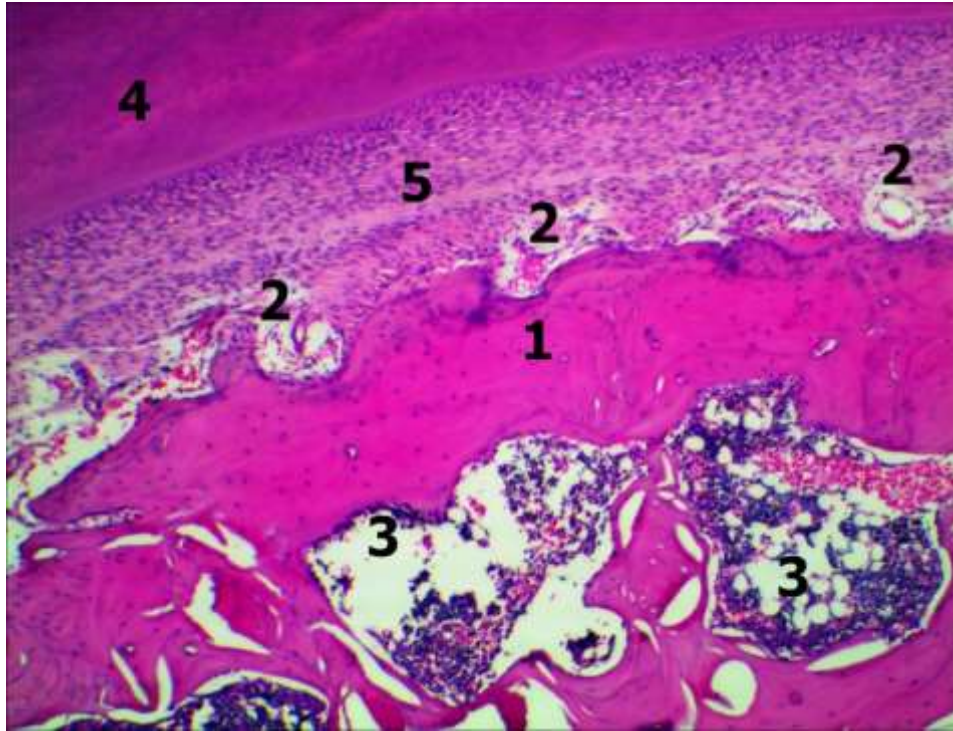
Рисунок 3.5 – Гістологічна будова пародонта щура через 7 діб моделювання пародонтиту. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 180$

У міру прогресування процесу запальні прояви посилювалися з нашаруванням на них деструктивних процесів та одночасним розвитком компенсаторних змін. Зміни деструктивного характеру проявлялися подальшим відшаруванням періодонтальної зв'язки, поглибленням періодонтальної кишені, а також вогнищевою резорбцією альвеолярної кістки. В епітелії спостерігалися зміни дистрофічного характеру, які проявлялися його потоншенням зі сторони ротової порожнини, зменшенням розмірів клітин та пікнозом їх ядер. Компенсаторні прояви характеризувалися розростанням грануляційної тканини в яснах з вогнищами акантозу епітелію з його потовщенням біля зуба та збільшенням розмірів його сосочків, що заглиблюються у підлеглу сполучну тканину у результаті проліферації. Одночасно спостерігалось розростання сполучної тканини (рис. 3.6, 3.7).



Умовні позначки: 1 – кістка альвеолярного відростка щелепи, 2 – акантоз епітелію, 3 – розростання сполучної тканини.

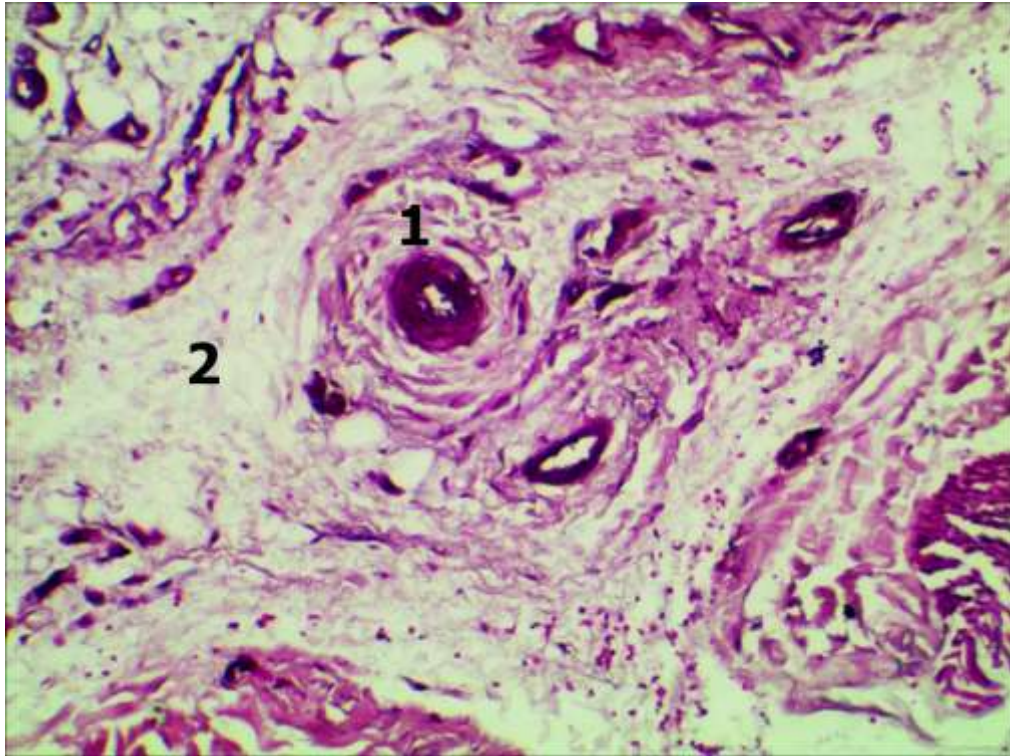
Рисунок 3.6 – Гістологічна будова пародонта щура через 14 діб моделювання пародонтиту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 140$



Умовні позначки: 1 – кістка альвеолярного відростка щелепи, 2 – резорбція компактної кіркової частини альвеолярної кістки остеокластами, 3 – деструкція губчастої частини альвеолярної кістки на місці поліморфноклітинних інфільтратів.

Рисунок 3.7 – Гістологічна будова пародонта щура через 21 добу моделювання пародонтиту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 140$

Щодо кровоносних судин, то по мірі збільшення тривалості модельованої патології їх стінки артерій потовщувалися, а просвіт звужувався. Потовщення стінок артерій відбувалося як за рахунок набряку, так і за рахунок гіпертрофії самих гладком'язових клітин, що підтверджувалося збільшенням їх розмірів. Такі зміни у артеріях спрямовані на зменшення гемодинамічного навантаження на гемомікроциркуляторне русло. Однак, не зважаючи на це, гемодинамічні порушення приводили до розвитку периваскулярних набряків, які супроводжувалися потовщенням адвентиції судин за рахунок її розволокнення (рис. 3.8).

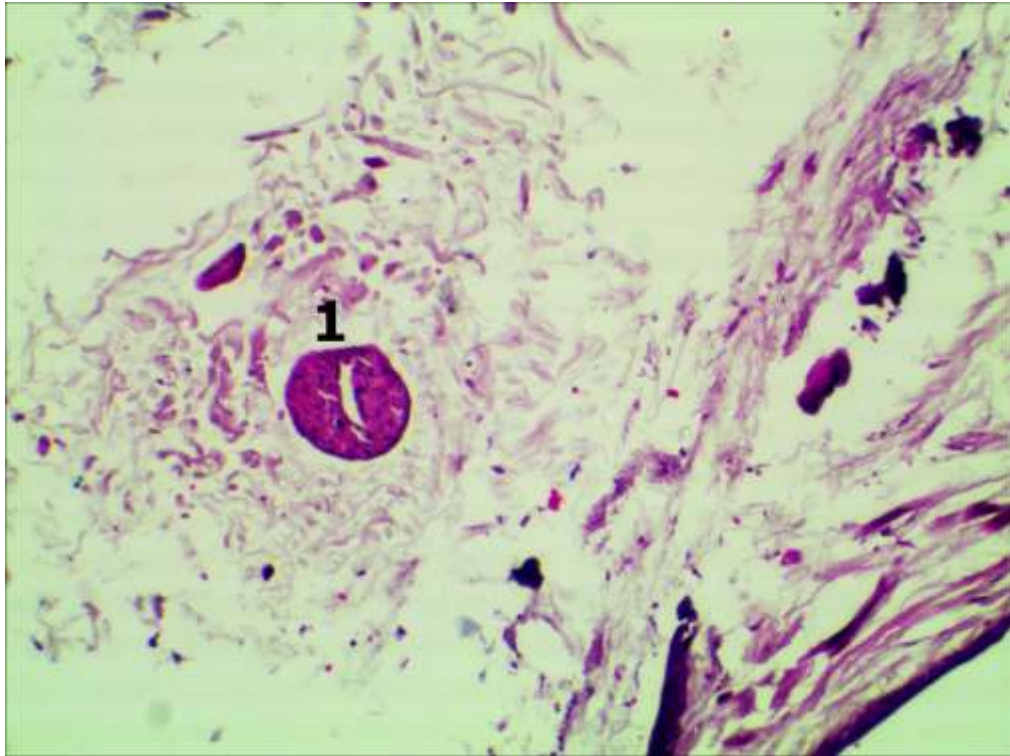


Умовні позначки: 1 – артерія з потовщеною стінкою і звуженим просвітом та розволокнуною адвентицією, 2 – периваскулярний набряк.

Рисунок 3.8 – Гістологічна будова пародонта щура через 21 добу моделювання пародонтиту.

Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 180$

Іноді зустрічалися артерії з особливо потовщеними стінками, які нагадували артерії «закриваючого типу», що свідчить про їх активне функціональне навантаження за різних умов гемодинаміки (рис. 3.8). Для таких артерій характерною була наявність субінтимально розташованих пучків гладкої мускулатури поздовжнього спрямування, тобто так званих «поліпоподібних подушок», які здатні особливо інтенсивно впливати на швидкість і об'єм кровоплину (рис. 3.9). Відрізнити пучки поздовжньої гладкої мускулатури можна було по округлій формі зрізів їх ядер, так як при циркулярному розташуванні волокон їх ядра мають веретеноподібну форму.



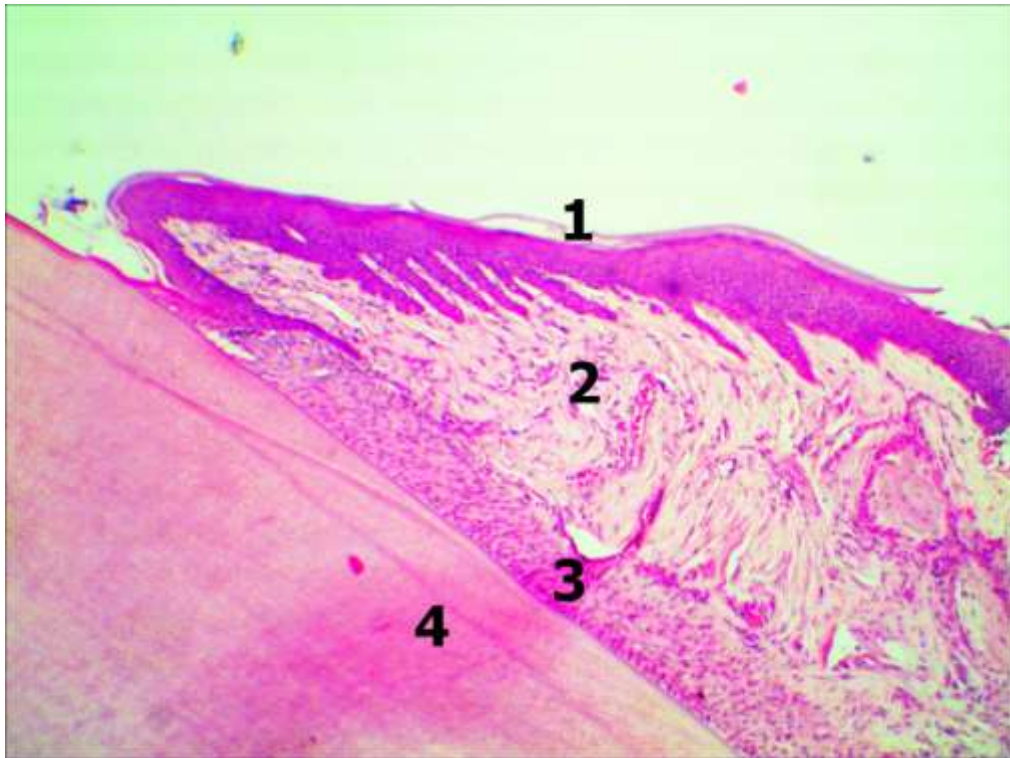
Умовні позначки: 1 – артерія з потовщеною стінкою і звуженим просвітом та поздовжнім пучком субінтимально розташованої гладкої мускулатури.

Рисунок 3.9 – Гістологічна будова пародонта щура через 21 добу моделювання пародонтиту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 140$

Застосування методів корекції з використанням мезенхімальних стовбурових клітин людини, а також м'язових стовбурових клітин щура мало позитивний вплив на перебіг модельованого патологічного процесу. Поступово редукувалися ті морфологічні зміни, які були характерними для пародонтиту. Тобто, відновлювалося нормальне кровопостачання тканин. Артерії були менш повнокровними, знижувався тонус їх стінок. У результаті цього поступово спадав набряк тканин, вони набували вихідних розмірів. Зменшувалися і поступово зникали поля поліморфноклітинної інфільтрації. За рахунок остеобластів відновлювалася структура кістки альвеолярного відростка щелепи. Зменшувалися розміри пародонтальної кишені, а то вони і

зовсім закривалися в результаті повної адгезії слизової оболонки ясен до зуба, яка піднімалася по його поверхні догори.

Однак, при застосуванні м'зових стовбурових клітин щура, місцями навіть до завершення спостереження ще зберігалися явища акантозу, а також склеротичні зміни у підслизовій сполучній тканині (рис. 3.10).

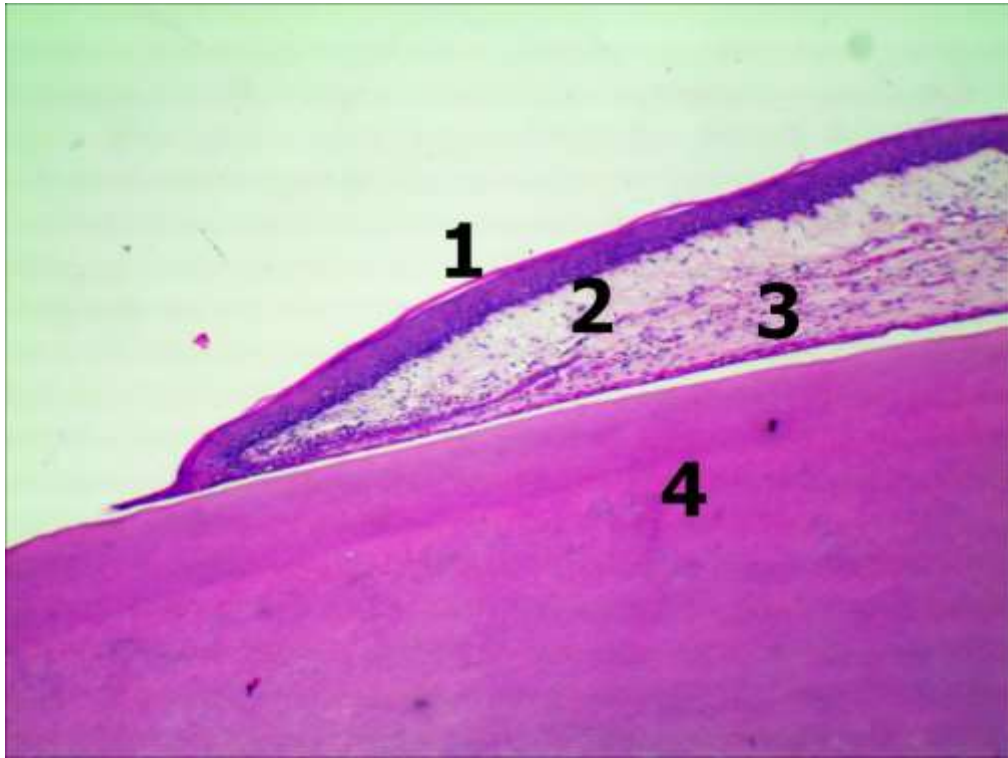


Умовні позначки: 1 – епітелій із частково збереженими явищами акантозу, 2 – сполучна тканина, 3 – періодонтальна зв'язка, 4 – тканина зуба.

Рисунок 3.10 – Гістологічна будова пародонта щура через 14 діб застосування м'зових стовбурових клітин щура на тлі моделювання пародонтиту. Забарвлення гематоксилином і еозином. × 140

Водночас слід відмітити, якщо описані процеси ремоделювання тканин пародонту мали місце при застосуванні обох методів корекції, то результати наших досліджень також свідчать про те, що застосування мезенхімальних стовбурових клітин людини було дещо більш ефективним у порівнянні із застосуванням м'зових стовбурових клітин щура (рис. 3.11). При цьому

більш повно відновлювалася морфологічна організація структурних компонентів пародонту. За рахунок гіперплазії слизова наповзала на зуб нерідко повністю редукуючи пародонтальні кишені.



Умовні позначки: 1 – повністю відновлена структура епітелію слизової оболонки ясен, 2 – помірно виражена сполучна тканина, 3 – звичайний вигляд пародонтальної зв'язки, 4 – тканина зуба.

Рисунок 3.11 – Гістологічна будова пародонта щура через 21 добу застосування мезенхімальних стовбурових клітин людини на тлі моделювання пародонтиту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. × 140

Отже, при експериментальному відтворенні гострого пародонтиту мають місце деструктивні зміни епітелію та сполучнотканинної стромы, порушення кровоплину, спостерігається запальна реакція в тканині ясен.

Застосування методів корекції з використанням мезенхімальних стовбурових клітин людини, а також м'зових стовбурових клітин щура мало позитивний вплив на перебіг модельованого патологічного процесу:

поступово редукувалися ті морфологічні зміни, які були характерними для пародонтиту, відновлювалося нормальне кровопостачання тканин, поступово спадав набряк тканин, зменшувалися і поступово зникали поля поліморфноклітинної інфільтрації. За рахунок остеобластів відновлювалася структура кістки альвеолярного відростка щелепи. Зменшувалися розміри пародонтальної кишені, а у ряді випадків вони зовсім закривалися в результаті повної адгезії слизової оболонки ясен до зуба, яка піднімалася по його поверхні догори.

Позаяк при проведенні патоморфологічних досліджень виявилось, що застосування мезенхімальних стовбурових клітин людини було дещо більш ефективним у порівнянні із застосуванням м'язових стовбурових клітин щура, у наступних дослідженнях ми використовували тільки мезенхімальних стовбурових клітин людини.

Результати, що висвітлено у розділі, опубліковано у наукових працях автора [208, 209].

РОЗДІЛ 4

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ГОСТРОГО ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ДЛЯ ЙОГО КОРЕКЦІЇ

4.1 Інтенсивність процесів ліпідної пероксидації і стан антиоксидантної системи у щурів з гострим пародонтитом та за корекції мезенхімальними стовбуровими клітинами

Як показали наші дослідження (табл. 4.1), запальний процес у пародонті супроводжувався розвитком оксидативного стресу, що характеризується збільшенням інтенсивності продукування активних форм кисню. На 1-шу добу гострого пародонтиту тварин продукція АФК значно зростала і становила 170,6 % від рівня тварин без змодельованої патології, а до 7-ї доби від моменту моделювання патологічного процесу цей показник дещо знизився і становив 153,4 % від норми, однак все ж достовірно відрізнявся від рівня здорових тварин. У подальшому продукування АФК ще більше знижувалось і склало на 14-ту добу 131,3 %, а 21-шу – 113,6 % від рівня тварин, яким патологічний процес не моделювали. За умов уведення МСК, продукування АФК знижувалось. Зокрема, на 1-шу добу показник склав 163,2 % від рівня здорових тварин, що відповідно становило 96,0 % від рівня тварин, яким корекцію не проводили. На 7-му добу спостерігалось подальше зниження рівня АФК – 129,7 % від норми і 84,5 % від рівня тварин без корекції. На 14-ту добу показник АФК відносно тварин без змодельованої патології знизився ще більше і склав 125,6 %, однак відносно тварин без корекції він дещо зріс, порівняно з 7-ою добою – 95,6 %. До 21-ої доби рівень АФК продовжував знижуватись і становив 119,9 % від норми та 98,6 % від рівня тварин, яким корекції не проводили (рис. 4.1).

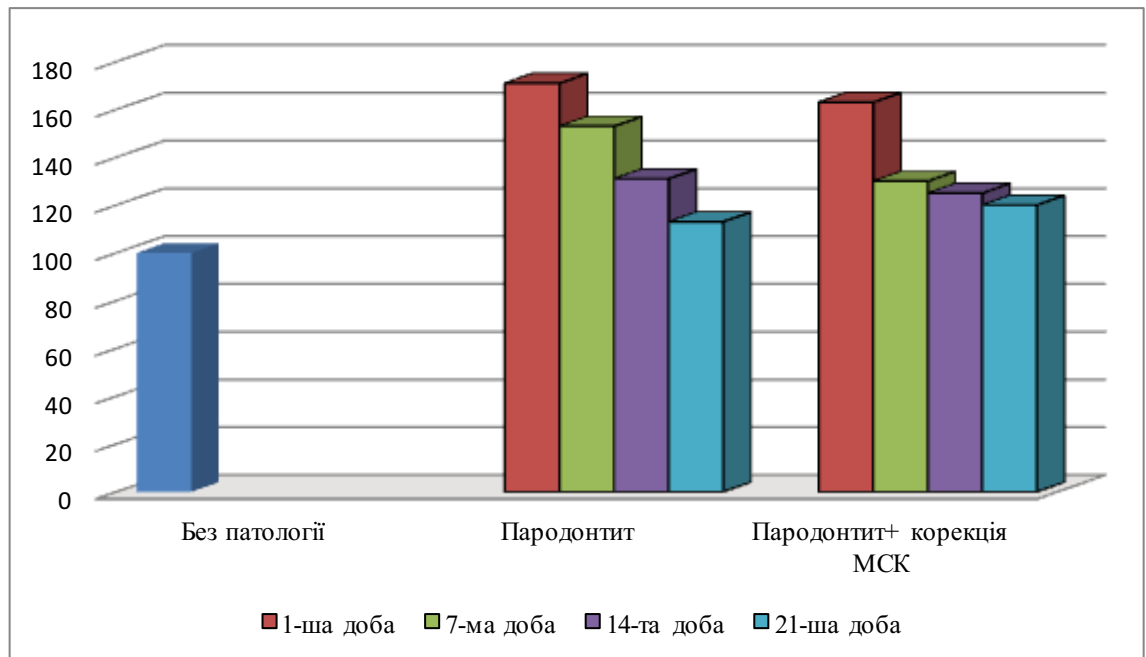


Рисунок 4.1 – Динаміка показника АФК у тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, (%)

Аналогічна тенденція спостерігалась і стосовно початкових і проміжних продуктів ліпопероксидації. Зокрема, вміст ГПЛ у сироватці крові тварин з гострим пародонтитом на 1-шу добу становив 139,3 % від аналогічного показника інтактних тварин, з подальшим зниженням до 21-ої доби, коли показник склав 114,7 % від рівня тварин, яким моделювання пародонтиту не проводили. Корекція із застосуванням МСК супроводжувалась менш інтенсивним зростанням ГПЛ, особливо у пізні терміни розвитку патологічного процесу. Зокрема, якщо на 1-шу добу спостереження показник був на 35,1 % вищим від норми і достовірно не відрізнявся від аналогічного показника тварин без корекції, то до 21-ої доби це зростання склало лише 12,8 % відносно інтактних тварин (рис. 4.2).

За умов експериментального гострого пародонтиту вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові на 1-шу добу перевищував показник здорових щурів у 1,4 раза. До 7-ої доби досліджуваний показник дещо знижувався і склав 127 % від рівня інтактних тварин. До 21-ої доби спостерігалось

подальше зниження концентрації ТБК-активних продуктів і показник склав 117,7 % від норми. На першу добу спостереження рівень ТБП в сироватці крові тварин, яким проводили корекцію із застосуванням МСК становив 128,9 % від аналогічного показника тварин без змодельованої патології, що, однак. Було достовірно меншим, ніж у тварин без корекції – 92,2 %. Ця ж тенденція тривала і до завершення експерименту – на 21-шу добу показник склав 103,6 % від норми і 94,5 % від рівня тварин без корекції (рис. 4.3).

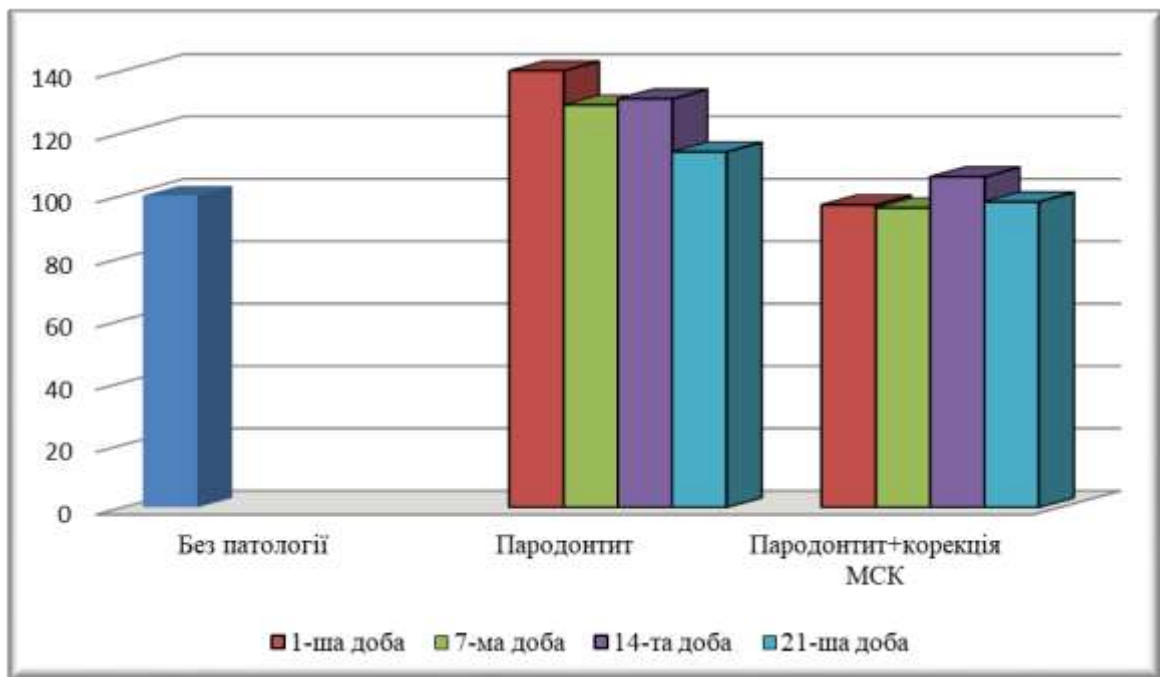


Рисунок 4.2 – Динаміка вмісту ГПЛ у сироватці крові тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, (%)

Аналогічною була динаміка кінцевого продукту ліпопероксидного ланцюга – ШО. У тварин яким моделювали пародонтит його вміст достовірно зростав на 1-шу добу спостереження у 2,1 раза. До 7-ої доби концентрація цього продукту знижувалась і він склав 181,3 % від норми. У подальшому зниження продовжувалося і до 14-ї доби він перебував на рівні 153,1 %, а до 21-ої – 140,6 % від норми. Застосування МСК як коригуючого засобу спричинилося до зниження концентрації ШО. Протягом усього

експерименту показники були меншими, ніж у тварин без змодельованої патології і достовірно відрізнялись від аналогічних показників тварин з пародонтитом без корекції у відповідні терміни спостереження (рис. 4.4).

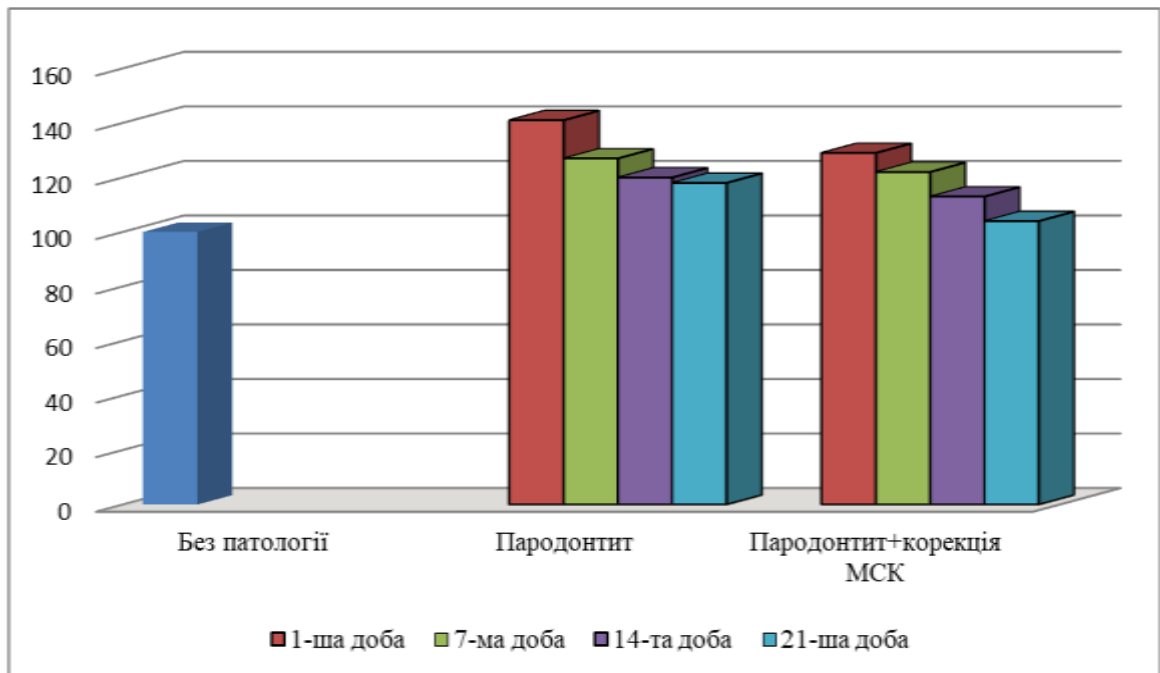


Рисунок 4.3 – Динаміка вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, (%)

Поряд із зростанням процесів ліпідної пероксидації, відбувалося підвищення інтенсивності окиснювальної модифікації білків, причому це стосувалося обох їх фракцій – $ОМБ_{370}$ і $ОМБ_{430}$ (табл. 3.1; рис. 4.5). Так, на 1-шу добу спостереження показник $ОМБ_{370}$ зріс в 1,6 раза відносно інтактних тварин з подальшим зниженням до 21-ої доби, коли він склав 124,1 % від норми. У тварин з пародонтитом, яким уводили МСК зростання $ОМБ_{370}$ було менш інтенсивним. Якщо на 1-шу добу спостереження показник перевищував норму на 51,7 %, то на 21-шу добу він був лише на 13,8 % вищим, ніж у тварин без змодельованої патології та склав 91,7% від рівня тварин, яким корекцію не проводили.

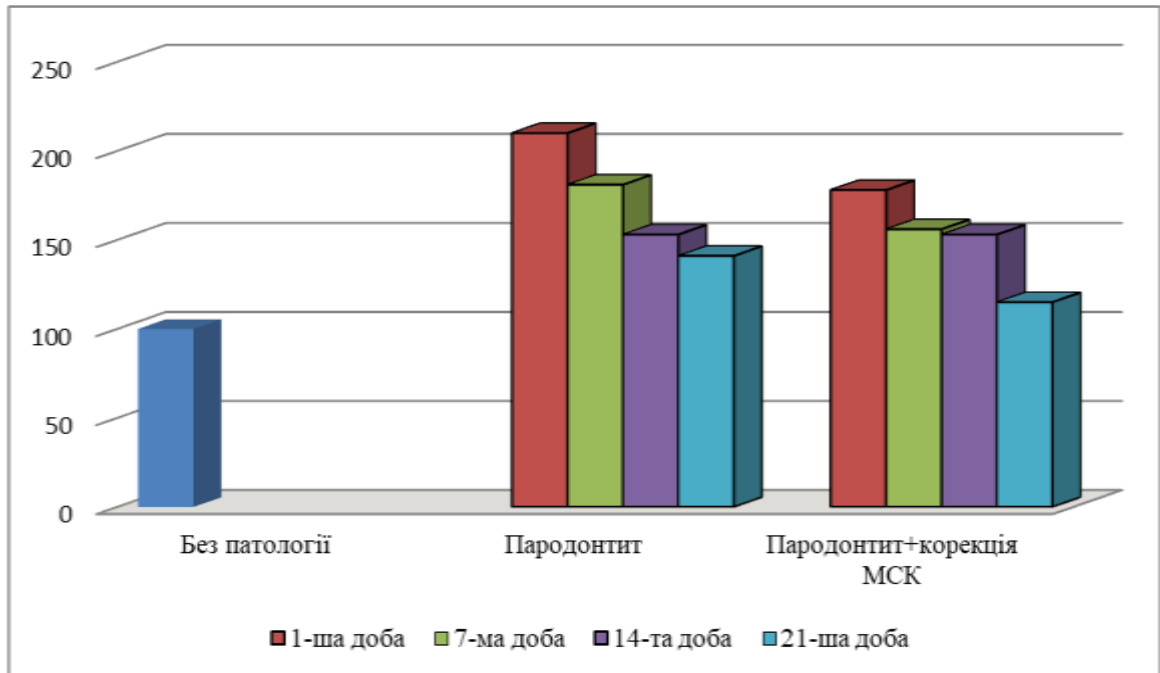


Рисунок 4.4 – Динаміка вмісту основ Шиффа у сироватці крові тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, (%)

Таблиця 4.1 – Концентрація продуктів вільнорадикального окиснення у тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, $M \pm m$

Показник\ група тварин		АФК, ум.од	ГПЛ, ум. од/мл	ТБП, мкмоль/л	ШО, ум. од/мл	ОМБ ₃₇₀	ОМБ ₄₃₀
1		2	3	4	5	6	7
Без патології. n=12		0,367 ± 0,012	4,55 ± 0,22	3,56 ± 0,14	0,032 ± 0,003	0,58 ± 0,09	0,51 ± 0,06
Гострий пародонтит	1-ша доба, n=10	0,626 ± 0,011*	6,34 ± 0,26*	4,98 ± 0,19*	0,067 ± 0,002*	0,95 ± 0,08*	0,83 ± 0,05*
	7-ма доба, n=10	0,563 ± 0,017*	5,85 ± 0,12*	4,52 ± 0,12*	0,058 ± 0,004*	0,86 ± 0,11	0,77 ± 0,07*
	14-та доба, n=10	0,482 ± 0,012*	5,14 ± 0,18*	4,28 ± 0,14*	0,049 ± 0,003*	0,75 ± 0,09*	0,79 ± 0,08*
	21-ша доба, n=10	0,417 ± 0,018*	5,22 ± 0,21*	4,19 ± 0,21*	0,045 ± 0,002*	0,72 ± 0,11*	0,66 ± 0,11*

Продовження таблиці 4.1

	1	2	3	4	5	6	7
Гострий пародонтит+МСК	1-ша доба, n=10	0,601 ± 0,010*#	6,15 ± 0,33*#	4,59 ± 0,12*#	0,057 ± 0,005*#	0,88 ± 0,07*#	0,75 ± 0,09*#
	7-ма доба, n=10	0,476 ± 0,013*#	5,66 ± 0,13*#	4,35 ± 0,16*	0,050 ± 0,002*#	0,83 ± 0,10*	0,69 ± 0,10*#
	14-та доба, n=10	0,461 ± 0,010*	5,45 ± 0,19*#	4,04 ± 0,14*	0,049 ± 0,004*	0,71 ± 0,14*	0,62 ± 0,05*#
	21-ша доба, n=10	0,411 ± 0,009*	5,14 ± 0,33*	3,69 ± 0,11#	0,037 ± 0,005#	0,66 ± 0,07*#	0,60 ± 0,06*
Тут і у наступних таблицях розділу: Примітка 1. * – достовірність різниці показників тварин з гострим пародонтитом відносно тварин без змодельованої патології; Примітка 2. # – достовірність різниці показників тварин з гострим пародонтитом, яким проводили корекцію МСК відносно тварин з гострим пародонтитом, яким корекції не проводили							

Аналогічна тенденція спостерігалась і стосовно OMB_{430} . У тварин з пародонтитом мало місце достовірне зростання показника на початкових етапах спостереження з подальшим зниженням до 21-ої доби (124,5 % від норми). За корекції МСК рівень OMB_{430} достовірно не відрізнявся від показника тварин без змодельованої патології до кінця експерименту, а також був достовірно меншим, ніж у тварин з пародонтитом – 90,9 % від їх рівня.

Позаяк активність вільнорадикальних процесів залежить не тільки від інтенсивності продукування активних форм кисню, а й від їх здатності започатковувати ланцюги ліпопероксидації чи окислювальної модифікації білків, нами було досліджено стан ферментної і неферментної ланок антиоксидантної системи, яка, власне, і протидіє розгалуженню цих вільнорадикальних ланцюгів.

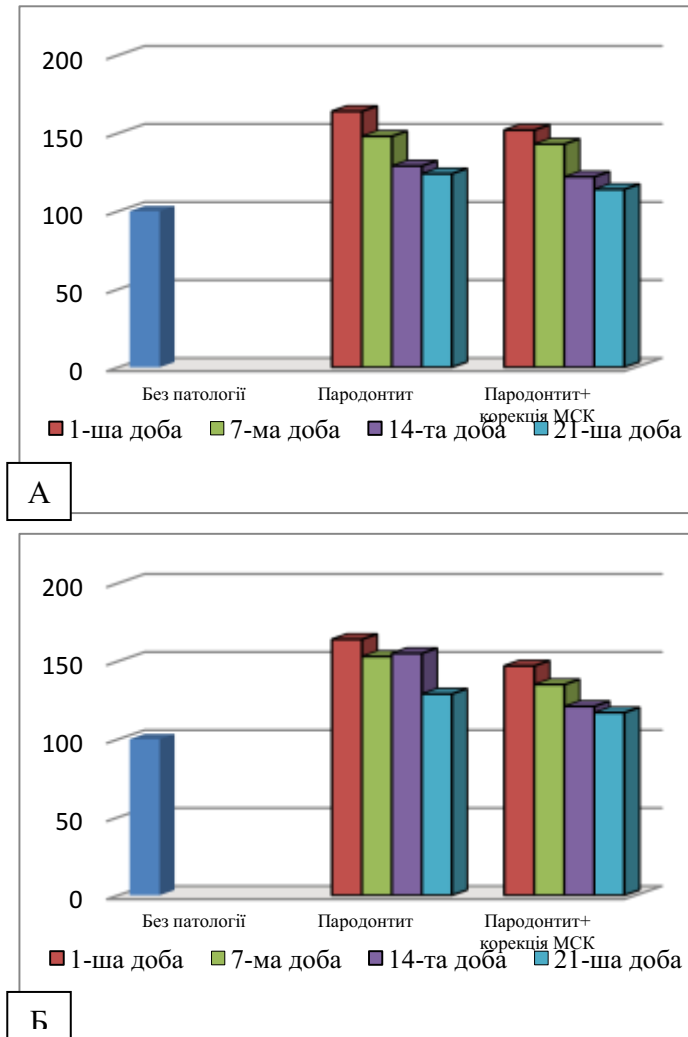


Рисунок 4.5 – Динаміка показника $ОМБ_{370}$ (А) та $ОМБ_{430}$ (Б) у тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, (%)

Нами встановлено, що супероксиддисмутазна активність у гемолізаті еритроцитів через 24 год. від моменту моделювання патологічного процесу зросла на 23,3 % порівняно з показником тварин без змодельованої патології, однак до 7-ої доби вона достовірно знизилась і склала 78,4 % від норми. До 14-ої доби зниження було ще більшим, склавши 70,5 %, а до 21-ої доби дещо зросла до рівня 14-ої доби. Уведення МСК мало значний вплив на цей показник. Зокрема, на 1-шу добу зростання активності СОД було менш виразним, ніж у тварин без корекції (133,5 % від норми, що на 8,3 % вище, ніж у тварин без корекції), до 7-ої доби ензимна активність зросла до 152,9 %

відносно тварин без корекції у цей термін дослідження. У подальші терміни дослідження ми спостерігали аналогічні на спрямованість зміни – зростання супероксиддисмутазної активності відносно тварин, яким корекція не проводилась (рис. 4.6).

Каталазна активність зазнавала аналогічних за спрямуванням змін. У тварин з гострим експериментальним пародонтитом на 1-шу добу спостереження спостерігалось незначне підвищення ензимної активності – 113,1 % від норми. У подальші терміни каталазна активність знижувалась і на 7-му добу складала 94,7 % від рівня тварин без змодельованої патології, на 14-ту – 87,3 % а на 21-шу – 96,0 % від норми. Застосування МСК спричинилося до зміни динаміки цього показника. Зокрема, на 1-шу добу від моменту введення коригуючого чинника каталазна активність склала 108,2 % від норми, проте відносно тварин з пародонтитом, яким корекцію не проводили показник склав 95,7%. У подальші терміни спостереження каталазна активність достовірно зростала як відносно здорових тварин, так і тих, яким не проводили корекції, зокрема на 7-му добу показник склав 110,4 %, 14-ту – 127,5 %. 21-шу – 111,5 % (рис. 4.6).

Отже, введення МСК супроводжується не тільки сповільненням продукування АФО і активності процесів ліпопероксидації, а й зміною активності антиоксидантних ферментів І лінії захисту – СОД і каталази.

Суттєвих змін зазнавав ще один показник, що є основним антиоксидантом сироватки крові – церулоплазмін (рис. 4.7). Через 1-шу добу від моменту моделювання патологічного процесу концентрація ЦП достовірно зросла і склала 129,6 % від рівня тварин без патології. Однак у наступні терміни спостереження (7-ма і 14-та доби) ми спостерігали суттєве зниження концентрації церулоплазміну (83,1 та 76,7 % від норми відповідно). До 21-ої доби концентрація ЦП нормалізувалась і склала 103,8 % від показника інтактних тварин.

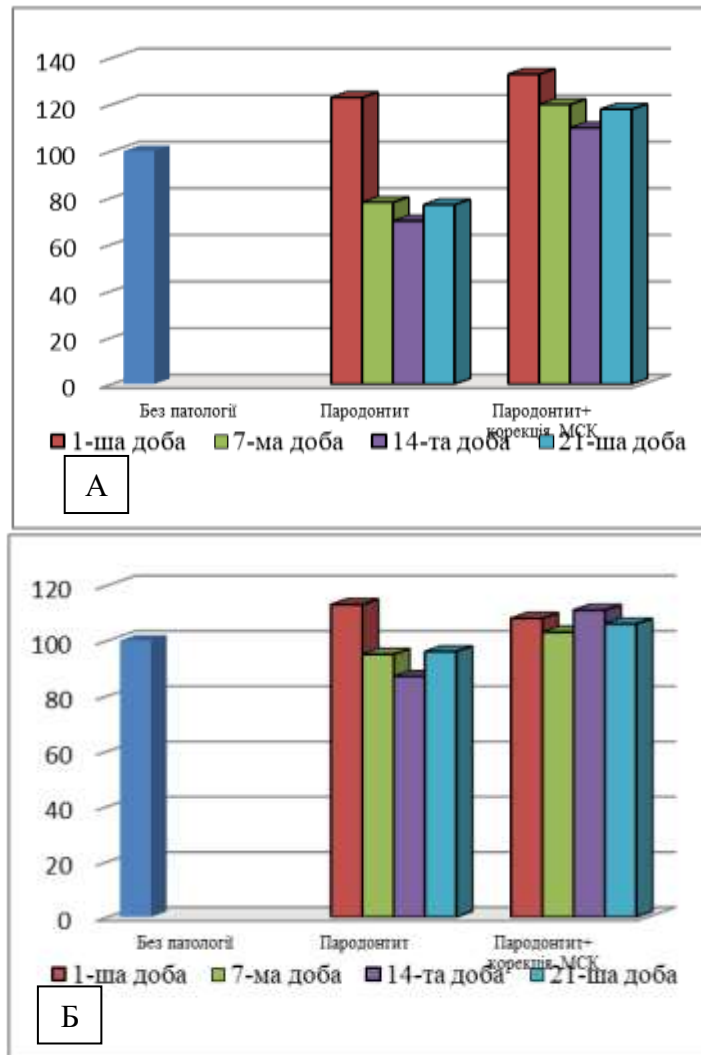


Рисунок 4.6 – Динаміка супероксиддисмутази (А) та каталазної (Б) активності у крові тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, (%)

За корекції із застосуванням МСК динаміка змін ЦП була дещо іншою (рис. 4.7). Зокрема, на 1-шу добу спостереження вона склала 150,5 % від рівня тварин, яким пародонтит не моделювали і, водночас, на 15,9 % перевищувала показник тварин з пародонтитом без корекції. У подальші терміни спостереження рівень ЦП дещо знижувався, однак складав 119,7 % на 7-му добу і 126,7 на 14-ту добу відносно здорових тварин, однак у порівнянні з показником тварин без корекції показники склали відповідно 143,9 та 164,7 %. До 21-ої доби рівень ЦП нормалізувався відносно тварин

без змодельованого патологічного процесу, а також суттєво не відрізнявся від показника тварин, яким корекції не проводили (109,7 %).

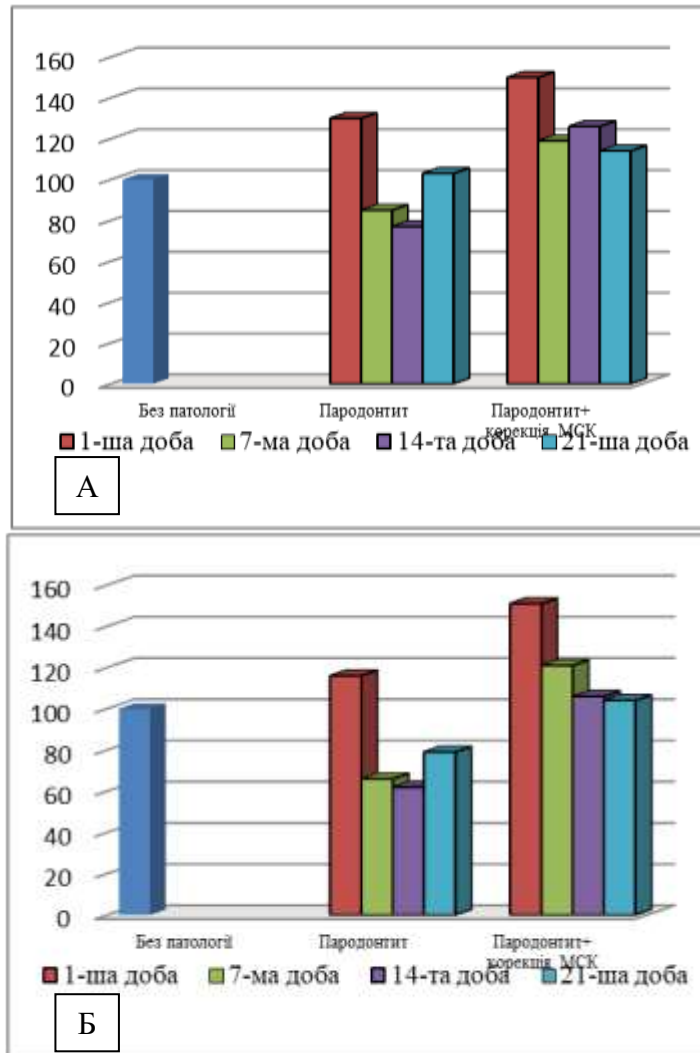


Рисунок 4.7 – Динаміка концентрації церулоплазміну (А) та показника загальної антиоксидантної активності плазми крові (Б) у тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, (%)

Аналогічну за спрямуванням динаміку продемонстрував ще один розрахунковий показник – загальна антиоксидантна властивість плазми крові (див. рис. 4.7). Ми також відмітили незначне зростання цього показника на першу добу після моделювання пародонтиту з подальшим зниженням до 14-ої доби і деяким підвищенням на 21-шу добу, коли ЗААП склала 78,7 % від

показника тварин без змодельованої патології. Застосування МСК супроводжувалось менш виразним, ніж у групі тварин без корекції, зростанням ЗААП на 1-шу добу (112,5 %) з подальшою нормалізацією до 21-ої доби, коли показник склав 103, 2 % від норми. Однак, якщо порівнювати з тваринами, яким моделювали патологічний процес без корекції, то різниця досить суттєва. Зокрема, на 7-му добу перевищення склало 82,5 %, на 14-ту – 69,7 %, а на 21-шу – 31 %.

Важливе значення у захисті від надмірної кількості вільнорадикальних продуктів відіграє глутатіонова система. Основним компонентом цієї системи є відновлений глутатіон, який, за рахунок сульфгідрильних груп здатен нейтралізувати вільнорадикальні продукти. У тварин із змодельованим гострим пародонтитом нами зафіксовано достовірне зниження концентрації відновленого глутатіону в усі терміни спостереження (рис. 4.8).

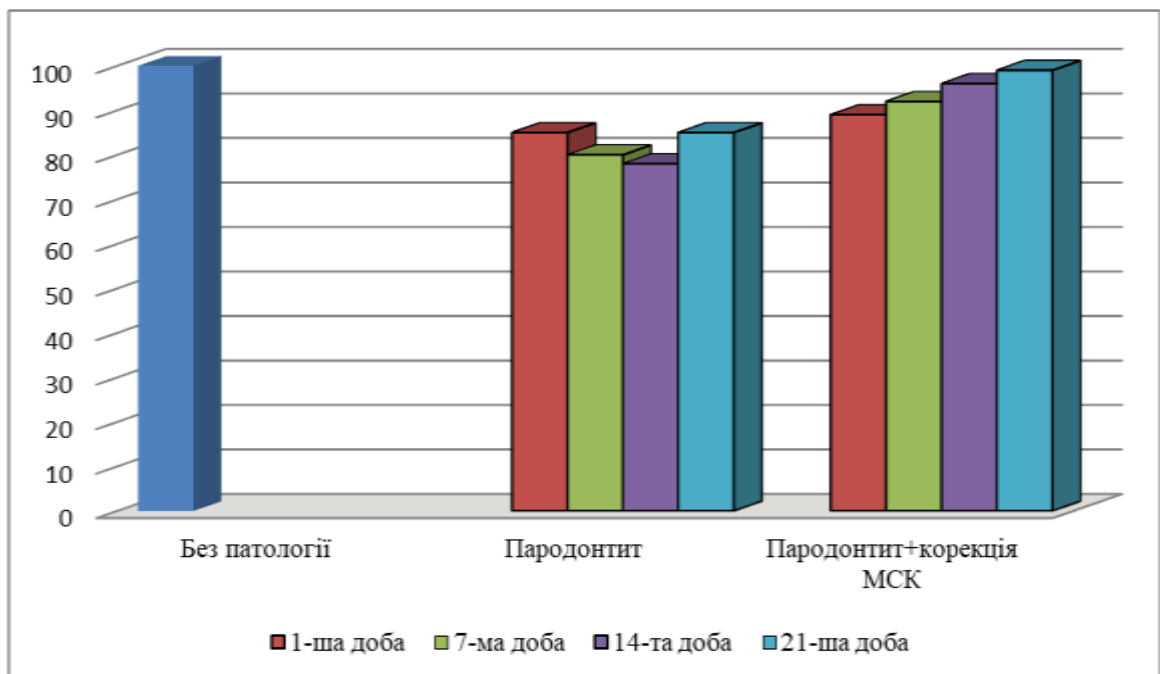


Рисунок 4.8 – Динаміка вмісту відновленого глутатіону у крові тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, (%)

Зокрема, через 1-шу добу від моделювання патологічного процесу вона склала 85 % від рівня тварин без патології, на 7-му добу – 79,8 %, 14-ту – 78,1 %, 21-шу – 85 %. Це вказує на витрачання відновлюваних еквівалентів з метою зменшення накопичення вільнорадикальних сполук.

Ензимом, який забезпечує цей процес є глутатіонпероксидаза. на початкових етапах патологічного процесу пероксидазна активність достовірно зростала і на 1-шу добу спостереження склала 113,7 % від рівня здорових тварин. У подальшому ми спостерігали зниження глутатіонпероксидазної активності і на 7-му добу вона становила 107 % від норми, 14-ту – 76,5 %, 21-шу – 81,8 %, що може свідчити про виснаження ензимного потенціалу (рис. 4.9). Застосування МСК супроводжувалось нормалізацією глутатіонпероксидазної активності. На ранніх етапах показник суттєво не відрізнявся від значень тварин без змодельованої патології (104,2 % та 103,1 %), у подальшому показники дещо знижувались відносно здорових тварин, однак у порівнянні з аналогічними показниками тварин без корекції вони становили 124,8 % та 119,3 %.

Ще одним важливим ензимом, що забезпечує відновлення сульфгідрильних труп є глутатіонредуктаза. Проведені нами дослідження вказують на достовірне зниження глутатіонредуктазної активності у тварин, яким моделювали гострий пародонтит (рис. 4.9). Зокрема, на 1-шу добу спостереження показник становив 78,6 % від рівня тварин без патології, на 7-му добу – 75,6 %, 14-ту – 66,5 %. До 21-ої доби показник дещо зріс (до 89,9 %), однак залишався достовірно нижчим від норми. За корекції МСК зниження ензимної активності було менш виразним, ніж у тварин, яким корекцію не проводили. (табл. 3.2). На 1-шу добу показник склав 88,3 % від аналогічного показника тварин без змодельованої патології, проте на 12,5 % перевищував показник тварин, яким корекції не проводили. На 7-му добу зниження ГР відносно здорових тварин було не достовірним і на 25,1 % перевищувало показник тварин без корекції. До 14-ої доби відбулось

подальше зниження активності ГР і її показник склав 84,2 % від норми, однак перевищував рівень тварин без корекції на 26,4 %. До 21-ої доби показник ГР наблизився до норми (96,7 %), що на 7,5 % вище, ніж у тварин без корекції.

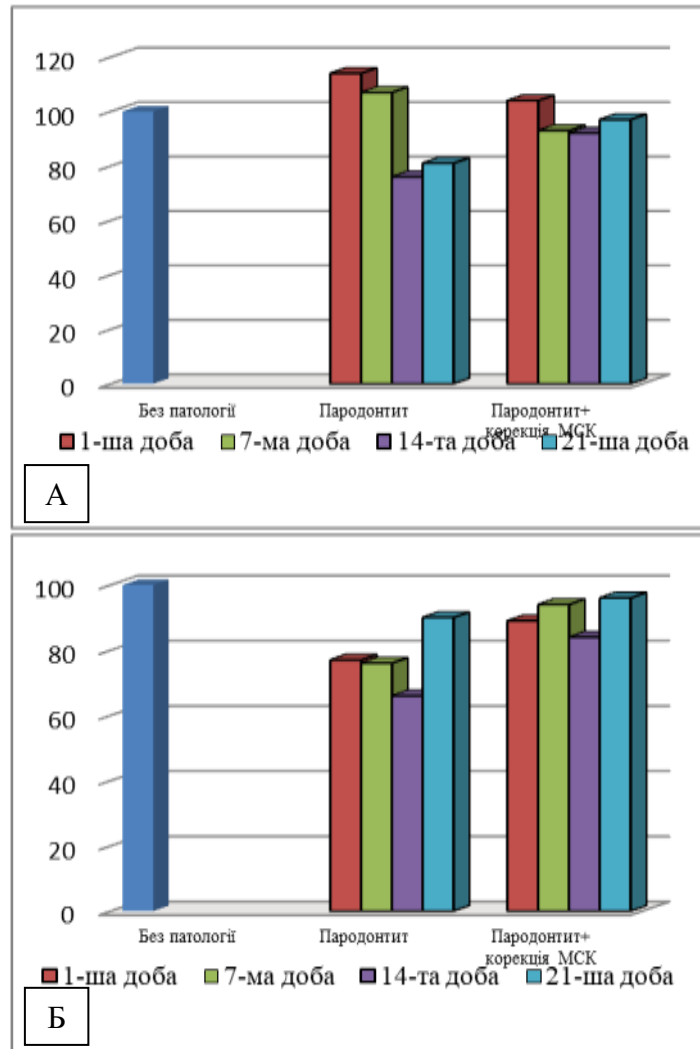


Рисунок 4.9 – Динаміка глутатіонпероксидазної (А) та глутатіонредуктазної активності плазми крові (Б) у тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, (%)

Отже, моделювання гострого пародонтиту спричинилося до зростання факторів антиоксидного захисту на ранньому етапі патологічного процесу з подальшим виснаженням антиоксидантних резервів, що може призвести до надмірного зростання активності вільнорадикальних процесів та ушкодження

тканин пародонта. Корекція із застосуванням МСК мала позитивний ефект, згладжуючи зміни, що виникали (табл. 3.2).

Таблиця 4.2 – Показники антиоксидантної системи у тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК

Показник\ група тварин		СОД, ум.од/мл	КТ кров, ум.од/мл	ЦП, мг/л	ЗААП, %	ВГ, ммоль/л	ГП (ммоль/хв·мл)	ГР (ммоль/хв·мл)
Без патології		1,76 ± 0,04	0,826 ± 0,011	273,8 ± 8,7	48,71 ± 0,28	4,21 ± 0,24	0,285 ± 0,012	79,81 ± 1,37
Гострий пародонтит	1-ша доба, n=10	2,17 ± 0,02*	0,934 ± 0,016*	354,9 ± 15,2*	56,25 ± 0,09*	3,58 ± 0,09*	0,324 ± 0,011*	62,29 ± 1,54*
	7-ма доба, n=10	1,38 ± 0,04*	0,782 ± 0,013*	227,5 ± 12,3*	32,14 ± 0,14*	3,36 ± 0,11*	0,305 ± 0,005	60,34 ± 1,22*
	14-та доба, n=10	1,24 ± 0,02*	0,721 ± 0,011*	210,1 ± 12,7*	30,11 ± 0,12*	3,29 ± 0,09*	0,218 ± 0,07*	53,18 ± 1,13*
	21-ша доба, n=10	1,35 ± 0,03*	0,785 ± 0,009	284,2 ± 11,9	38,35 ± 0,14*	3,58 ± 0,08*	0,233 ± 0,009*	71,76 ± 1,09
Гострий пародонтит+МСК	1-ша доба, n=10	2,35 ± 0,05*#	0,894 ± 0,011*	411,3 ± 10,8*#	63,26 ± 0,23*	3,74 ± 0,11*	0,296 ± 0,011#	70,53 ± 1,21*
	7-ма доба, n=10	2,11 ± 0,03*#	0,854 ± 0,017#	327,4 ± 12,6*#	58,67 ± 0,27*#	3,88 ± 0,16*#	0,264 ± 0,009*#	75,44 ± 1,24#
	14-та доба, n=10	1,93 ± 0,04#	0,919 ± 0,014*#	346,1 ± 13,9*#	51,11 ± 0,31#	4,04 ± 0,14#	0,272 ± 0,010#	67,20 ± 1,12*#
	21-ша доба, n=10	2,08 ± 0,05#	0,875 ± 0,012#	311,9 ± 11,3#	50,25 ± 0,18#	4,18 ± 0,15#	0,278 ± 0,012#	77,12 ± 1,06

4.2 Особливості неспецифічної і специфічної ланок імунного захисту у щурів з гострим пародонтитом та при застосуванні мезенхімальних стовбурових клітин

Порівняльне дослідження функціональної активності нейтрофілів показало, що розвиток запалення в яснах характеризувався збільшенням вмісту активних нейтрофілів у периферичній крові. На 1-шу добу від початку експерименту показник сНСТ-тесту був вищим на 85,8 % від аналогічного показника тварин, яким не проводили моделювання патологічного процесу (рис. 4.10).

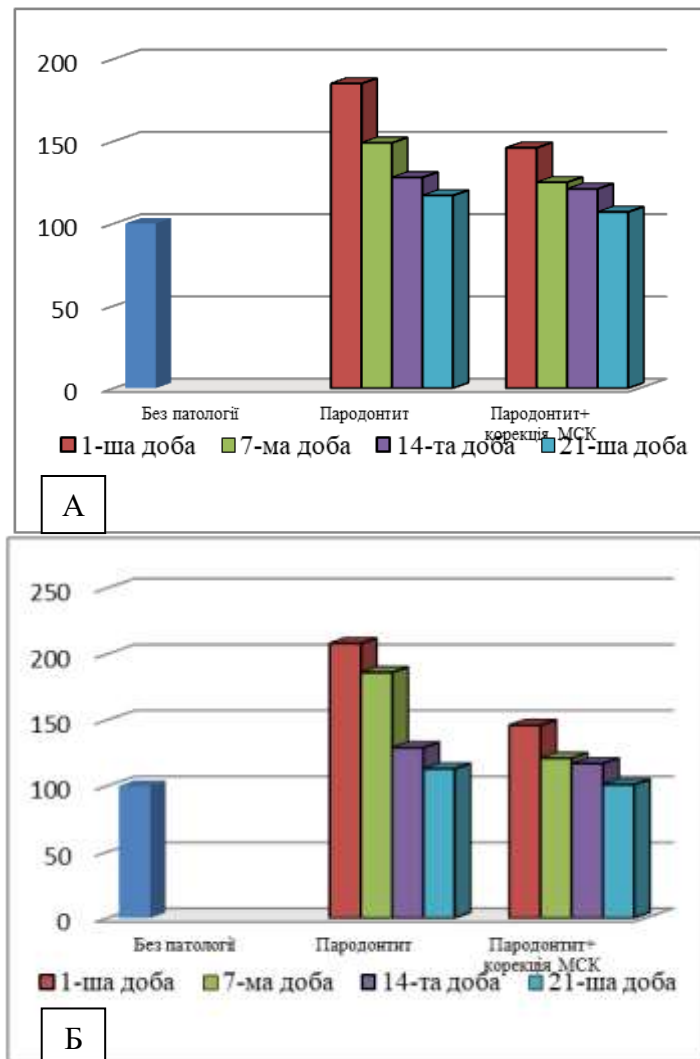


Рисунок 4.10 – Динаміка спонтанного (А) та індукованого (Б) НСТ-тесту у тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, (%)

У ще більшій мірі, у 2,1 рази змінився показник індукованого НСТ-тесту. Показник резерву склав $1,66 \pm 0,12$, що на 12,2 % вище, ніж у контролі. Збільшення показника резерву відображає зростання функціональних резервів нейтрофілів, характерне для запалення. На це ж вказує і збільшення коефіцієнта метаболічної активації нейтрофілів (на 25% від рівня здорових тварин). На 7-му добу з моменту моделювання пародонтиту показники сНСТ-тесту і іНСТ-тесту дещо знизилися і склали відповідно 149,3 та 185,9 % від рівня інтактних щурів. ПР на 7-му добу з моменту нанесення ушкодження ще більше зріс і становив 125 % від норми, а коефіцієнт резерву також дещо збільшився порівняно з 1-ою добою і склав 143,8 % від норми. У подальші терміни спостереження значення як спонтанного, так і стимульованого НСТ-тестів знижувались і до 21-ої доби склали відповідно 117,1 і 113 % від рівня тварин без змодельованої патології. Показник резерву, а також коефіцієнт активації нейтрофілів до 21-ої доби були навіть меншими, ніж у тварин без змодельованої патології, що вказує на виснаження функціональних резервів нейтрофілів.

Дослідження функціональної активності нейтрофілів периферичної крові у щурів із пародонтитом, яким проводили корекцію МСК, показало зниження інтенсивності дихального вибуху в поліморфно-ядерних лейкоцитах. На всіх термінах експерименту значення як спонтанного, так і стимульованого НСТ-тесту (табл. 4.3) були нижчими порівняно з тваринами, у яких корекцію не проводили. Зокрема, на 1-шу добу експерименту у щурів з корекцією показники сНСТ-тесту та іНСТ-тесту були достовірно вищими, ніж у тварин без патології, однак склали відповідно 78,7 та 70,3 % від тварин без корекції. Показник резерву, а також коефіцієнт активації нейтрофілів перебували на рівні здорових тварин, достовірно відрізняючись від аналогічних показників без корекції – відповідно 89,2 та 82,5 %. Через 7 діб з моменту завершення моделювання пародонтиту і проведення корекції показники НСТ-тесту знизилися, що супроводжувалося достовірним

зменшенням показника резерву відносно тварин без корекції відповідно до $(1,42 \pm 0,06)$ і $K_{\text{акт}}$ до $(0,30 \pm 0,04)$. Така ж тенденція спостерігалась і у подальші терміни спостереження, зокрема до 21-ої доби показники сНСТ-тесту і зНСТ-тесту достовірно не відрізнялись від аналогічних показників тварин без змодельованої патології, будучи, однак, достовірно нижчими, ніж у тварин, яким проводили корекцію із застосуванням МСК – відповідно 91,2 та 89,3 %. Показник резерву і коефіцієнт активації нейтрофілів достовірно не відрізнялись від аналогічних показників здорових тварин (табл. 4.3).

Таблиця 4.3 – Показники НСТ-тесту у щурів з гострим пародонтизом та за корекції МСК, $M \pm m$

Показник \ група тварин		сНСТ-тест, %	іНСТ-тест, %	ПР	$K_{\text{акт}}$
Без патології, n=10		$15,48 \pm 0,78$	$22,96 \pm 1,11$	$1,48 \pm 0,11$	$0,32 \pm 0,03$
Гострий пародонтизм	1-ша доба, n=10	$28,76 \pm 1,22^*$	$47,74 \pm 1,22^*$	$1,66 \pm 0,12^*$	$0,40 \pm 0,06^*$
	7-ма доба, n=10	$23,11 \pm 1,17^*$	$42,69 \pm 1,37^*$	$1,85 \pm 0,09^*$	$0,46 \pm 0,05^*$
	14-та доба, n=10	$19,83 \pm 1,10^*$	$29,62 \pm 1,11^*$	$1,49 \pm 0,08$	$0,33 \pm 0,04$
	21-ша доба, n=10	$18,13 \pm 1,17$	$25,95 \pm 0,79$	$1,43 \pm 0,09^*$	$0,30 \pm 0,03$
Гострий пародонтизм+МСК	1-ша доба, n=10	$22,64 \pm 1,21^{*\#}$	$33,56 \pm 0,72^{*\#}$	$1,48 \pm 0,08^{\#}$	$0,33 \pm 0,04^{\#}$
	7-ма доба, n=10	$19,42 \pm 1,17^{*\#}$	$27,75 \pm 1,16^{*\#}$	$1,42 \pm 0,06^{*\#}$	$0,30 \pm 0,04^{\#}$
	14-та доба, n=10	$18,78 \pm 0,86^*$	$26,88 \pm 1,06^*$	$1,43 \pm 0,07^{*\#}$	$0,30 \pm 0,03$
	21-ша доба, n=10	$16,54 \pm 0,91^{\#}$	$23,18 \pm 0,86^{\#}$	$1,40 \pm 0,06^*$	$0,29 \pm 0,03$

Отже, отримані результати свідчать про те, що застосування МСК має вплив на функціональний стан нейтрофілів та активність в них оксигензалежних процесів. Запальний процес, котрий перебігає у пародонті щурів за умов корекції характеризується більш низькими показниками сНСТ-тесту та іНСТ-тесту в порівнянні із тваринами, яким корекцію не проводили. Зниження метаболічних і оксидативних процесів в осередку ушкодження супроводжується зниженням активності оксидативних процесів, що зумовлює зменшення інтенсивності пошкодження тканин у щурів з гострим пародонтитом.

У таблиці 4.4 наведено результати досліджень клітинної ланки імунітету. Як можна побачити з наведених даних, на 1-шу добу з моменту моделювання гострого пародонтиту рівень CD4+ клітин значно зріс і становив 147,6 % від аналогічного показника тварин без змодельованої патології, а до 7-ї доби цей показник дещо знизився і становив 130,3 % від норми, однак все ж достовірно відрізнявся від рівня здорових тварин. У подальшому рівень CD4+ клітин ще більше знижувався і становив на 14-ту добу 118,5 %, а 21-шу – 108,4 % від рівня тварин, яким патологічний процес не моделювали. На 1-шу добу після уведення МСК, рівень CD4+ клітин склав 130,8 % від показника здорових тварин, що відповідно становило 88,6 % від рівня тварин, яким корекцію не проводили. На 7-му добу спостерігалось подальше зниження рівня CD4+ клітин – 119,9 % від норми і 92 % від рівня тварин без корекції. На 14-ту добу рівень CD4+ клітин відносно тварин без змодельованої патології знизився ще більше і склав 109,5 %, однак відносно тварин без корекції він дещо зріс, порівняно з 7-ою добою – 92,5 %. До 21-ої доби рівень CD4+ клітин продовжував знижуватись і становив 101,7 % від норми та 93,9 % від рівня тварин, яким корекції не проводили.

Аналогічною була динаміка рівня клітин CD8+. У тварин яким моделювали пародонтит їх вміст достовірно зростав на 1-шу добу спостереження у 1,4 рази.

Таблиця 4.4 – Показники клітинної ланки імунної системи у щурів з гострим пародонтитом

Показник\ група тварин		CD4+, %	CD8+, %	CD4+/CD8+	CD3+, %	CD20+, %
Без патології		39,45 ± 1,09	23,35 ± 0,35	1,69 ± 0,01	61,37 ± 1,21	22,17 ± 0,36
Гострий пародонтит	1-ша доба, n=10	58,22 ± 1,26*	32,74 ± 0,98*	1,78 ± 0,02*	87,54 ± 1,37*	36,57 ± 0,61*
	7-ма доба, n=10	51,42 ± 1,11*	28,66 ± 1,01*	1,79 ± 0,07*	82,23 ± 1,18*	39,44 ± 0,82*
	14-та доба, n=10	46,74 ± 1,16*	26,32 ± 0,61*	1,77 ± 0,05*	78,14 ± 1,22*	34,12 ± 0,97*
	21-ша доба, n=10	42,75 ± 1,14	25,63 ± 0,52	1,68 ± 0,09	65,57 ± 1,09	28,52 ± 0,53
Гострий пародонтит+МСК	1-ша доба, n=10	51,61 ± 1,01*#	30,46 ± 0,91*	1,69 ± 0,06#	76,44 ± 1,11*#	35,42 ± 0,28*
	7-ма доба, n=10	47,31 ± 1,08*#	26,28 ± 0,34*	1,80 ± 0,08*	74,73 ± 1,21*#	36,27 ± 0,44*#
	14-та доба, n=8	43,22 ± 1,15#	25,17 ± 0,42	1,72 ± 0,06#	70,93 ± 1,14*#	33,18 ± 0,28*
	21-ша доба, n=10	40,16 ± 0,95#	24,22 ± 0,45	1,66 ± 0,05	65,76 ± 0,98	28,14 ± 0,22*

До 7-ої доби концентрація рівня клітин CD8+ знижувалась і він склав 122,7 % від норми. У подальшому зниження продовжувалося і до 14-ї доби він перебував на рівні 112,7 %, а до 21-ої – 99,4% від норми. За умов уведення МСК, рівень CD8+ клітин знижувався. Зокрема, на 1-шу добу показник склав 130,4 % від рівня здорових тварин, що відповідно становило 93 % від рівня тварин, яким корекцію не проводили. На 7-му добу спостерігалось подальше зниження рівня CD8+ клітин – 112,5 % від норми і 91,7 % від рівня тварин без корекції. На 14-ту добу рівень CD8+ клітин

відносно тварин без змодельованої патології знизився ще більше і склав 107,8 %, однак відносно тварин без корекції він дещо зріс, порівняно з 7-ою добою – 95,6 %. До 21-ої доби рівень CD8+ клітин наближався до нормальних значень (103,7 % від показника тварин без змодельованої патології і 105,8 % від показника тварин, яким корекцію не проводили) (рис. 4.11).

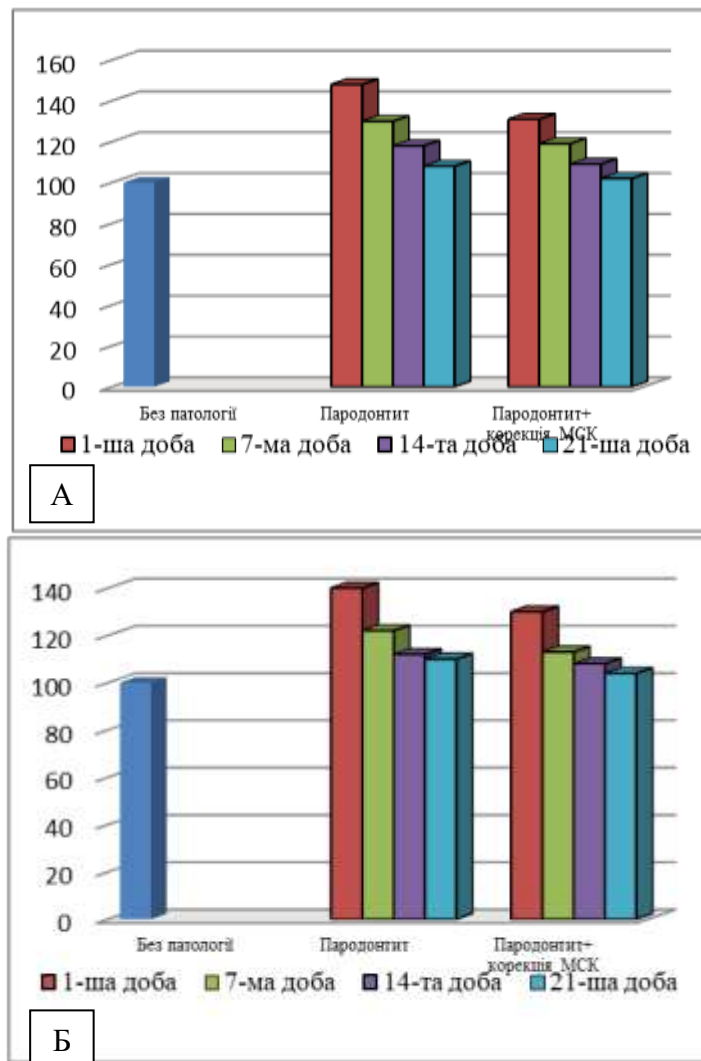


Рисунок 4.11 – Динаміка CD4+ (А) та CD8+ (Б) лімфоцитів у тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, (%)

Подібна тенденція спостерігалась і стосовно динаміки регуляторного індексу CD4+/CD8+ (див. табл. 4.4). Зокрема у тварин з гострим

пародонтитом на 1-шу добу він становив 106,5 % від аналогічного показника інтактних тварин, з подальшим зниженням до 21-ої доби, коли показник склав 99,4 % від рівня тварин, яким моделювання пародонтиту не проводили. На першу добу спостереження показник CD4+/CD8+ у тварин, яким проводили корекцію із застосуванням МСК становив 100 % від аналогічного показника тварин без змодельованої патології, що, однак, було достовірно меншим, ніж у тварин без корекції – 93,9 %. На 21-шу добу показник склав 98,2 % від норми 98,8 % від рівня тварин без корекції.

Аналогічні зміни спостерігались і стосовно рівня клітин CD3+ (рис. 4.12). Зокрема, вміст клітин CD3+ у сироватці крові тварин з гострим пародонтитом на 1-шу добу становив 142,6 % від аналогічного показника інтактних тварин, з подальшим зниженням до 21-ої доби, коли показник склав 106,8 % від рівня тварин, яким моделювання пародонтиту не проводили. Корекція із застосуванням МСК супроводжувалась менш інтенсивним зростанням рівня клітин CD3+. Зокрема, на 1-шу добу спостереження показник був на 24,5 % вищим від норми і достовірно не відрізнявся від аналогічного показника тварин без корекції, то до 21-ої доби це зростання склало 7,1 % відносно інтактних тварин. За умов експериментального гострого пародонтиту вміст клітин CD20+ у сироватці крові перевищував показник здорових щурів у 1,7 рази. До 14-ої доби досліджуваній показник дещо знижувався і склав 153,9 % від рівня інтактних тварин.

До 21-ої доби спостерігалось подальше зниження клітин CD20+ і показник склав 128,6 % від норми. На першу добу спостереження рівень клітин CD20+ в сироватці крові тварин, яким проводили корекцію із застосуванням МСК становив 159,7 % від аналогічного показника тварин без змодельованої патології, що, однак, було достовірно меншим, ніж у тварин без корекції – 96,9 %. Ця ж тенденція тривала і до завершення експерименту

– на 21-шу добу показник склав 126,9 % від норми і 98,7 % від рівня тварин без корекції.

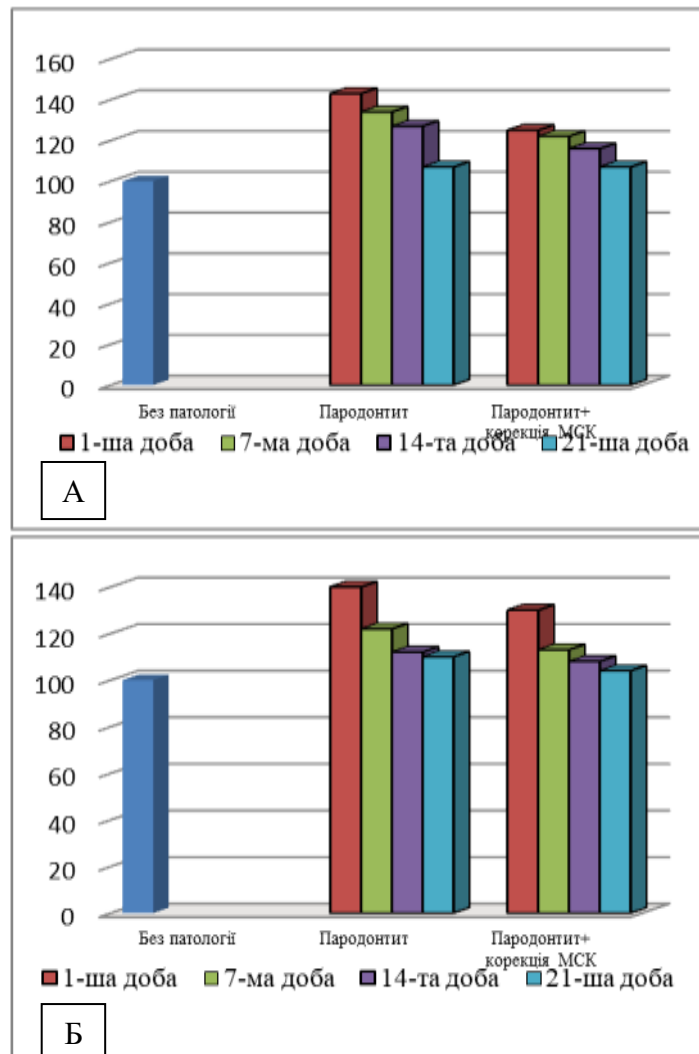


Рисунок 4.12 – Динаміка CD3+ (А) та CD20+ (Б) лімфоцитів у тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, (%)

У таблиці 4.5 наведено результати досліджень рівня імуноглобулінів в крові тварин з пародонтитом та за корекції МСК. Як можна побачити з наведених даних, на 1-шу добу гострого пародонтиту продукція сироваткових імуноглобулінів класу А значно зростала і становила 169 % від рівня тварин без змодельованої патології, а до 7-ої доби від моменту моделювання патологічного процесу цей показник дещо знизився і становив 140,2 % від норми, однак все ж достовірно відрізнявся від рівня здорових тварин.

Таблиця 4.5 – Показники гуморального імунітету у щурів з гострим пародонтитом

Показник\група тварин		IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л
Без патології n=12		3,58 ± 0,08	1,72 ± 0,04	15,4 ± 0,12
Гострий пародонтит	1-ша доба, n=10	6,05 ± 0,10*	3,11 ± 0,07*	18,7 ± 0,19*
	7-ма доба, n=10	5,02 ± 0,12*	2,72 ± 0,06*	19,6 ± 0,12*
	14-та доба, n=10	4,81 ± 0,11*	2,44 ± 0,05*	23,8 ± 0,11*
	21-ша доба, n=10	4,55 ± 0,12*	2,16 ± 0,08*	32,2 ± 0,16*
Гострий пародонтит+МСК	1-ша доба, n=10	5,86 ± 0,09*#	2,57 ± 0,08*#	16,9 ± 0,12#
	7-ма доба, n=10	4,94 ± 0,11*	2,25 ± 0,06*#	18,5 ± 0,14*#
	14-та доба, n=10	4,48 ± 0,09*#	1,92 ± 0,05*#	19,2 ± 0,12*#
	21-ша доба, n=10	4,12 ± 0,06*#	1,78 ± 0,06#	19,8 ± 0,13*#

У подальшому продукування IgA ще більше знижувалось і склало на 14-ту добу 134,4 %, а на 21-шу – 127,1 % від рівня тварин, яким патологічний процес не моделювали (рис. 4.13). За умов уведення МСК, продукування IgA було менш інтенсивним, ніж у тварин без корекції. Зокрема, на 1-шу добу показник склав 163,7 % від рівня здорових тварин, що відповідно становило 96,9 % від рівня тварин, яким корекцію не проводили. На 7-му добу рівень IgA склав 137,9 % від норми і 98,4 % від рівня тварин з пародонтитом без корекції. На 14-ту добу показник IgA відносно тварин без змодельованої патології склав 125,1 % від рівня тварин без змодельованої патології, однак відносно тварин без корекції він дещо зріс, порівняно з 7-ою добою – 93,1 %. До 21-ої доби рівень IgA становив 115,1 % від норми та 90,5 % від рівня тварин, яким корекції не проводили.

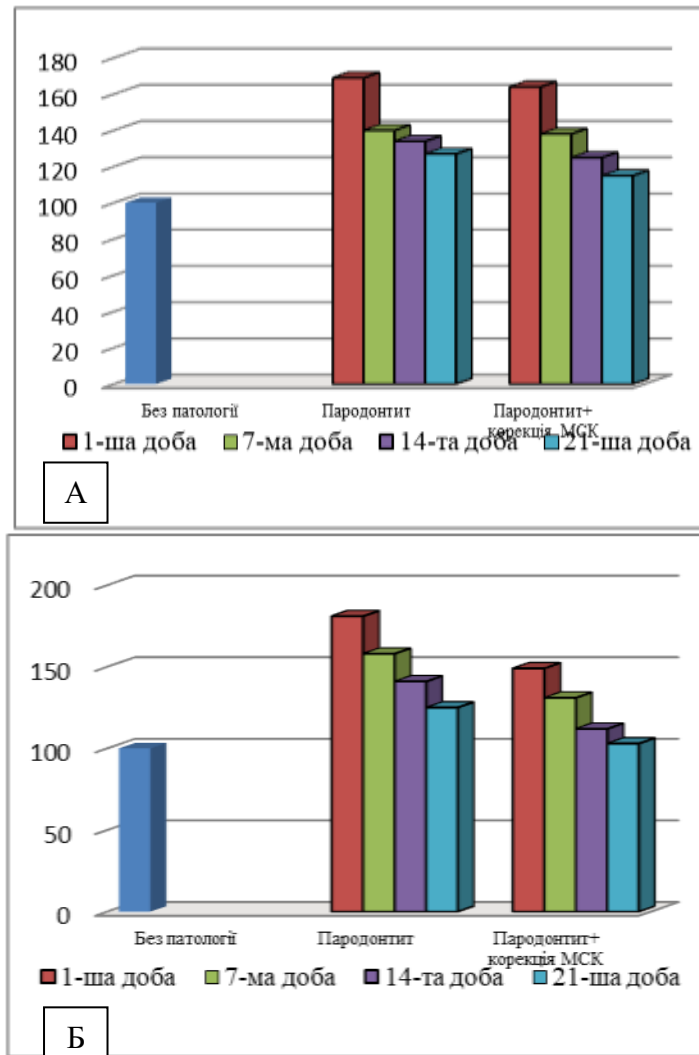


Рисунок 4.13 – Динаміка концентрації IgA (А) та IgM (Б) у сироватці тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, (%)

Подібна тенденція спостерігалась і стосовно імуноглобулінів класу М. Зокрема, вміст IgM у сироватці крові тварин з гострим пародонтитом на 1-шу добу після моделювання патологічного процесу становив 180,8 % від аналогічного показника інтактних тварин, з подальшим зниженням до 21-ої доби, коли показник склав 125,6 % від рівня тварин, яким моделювання пародонтиту не проводили (див. рис. 4.13). Корекція із застосуванням МСК також супроводжувалась зростанням IgM, проте менш вираженим, ніж у тварин без корекції. Зокрема, на 1-шу добу спостереження показник був на 49,4 % вищим від норми і достовірно не відрізнявся від аналогічного

показника тварин без корекції, то до 21-ої доби це зростання склало 3,4 % відносно інтактних тварин.

За умов експериментального гострого пародонтиту вміст імуноглобулінів класу G у сироватці крові перевищував показник здорових щурів у 1,2 раза на 1-шу добу від моменту моделювання пародонтиту. До 7-ої доби досліджуваний показник дещо зріс і склав 127,3 % від рівня інтактних тварин. До 21-ої доби спостерігалось подальше зростання IgG і цей показник склав 209,1 % від норми (рис. 4.14).

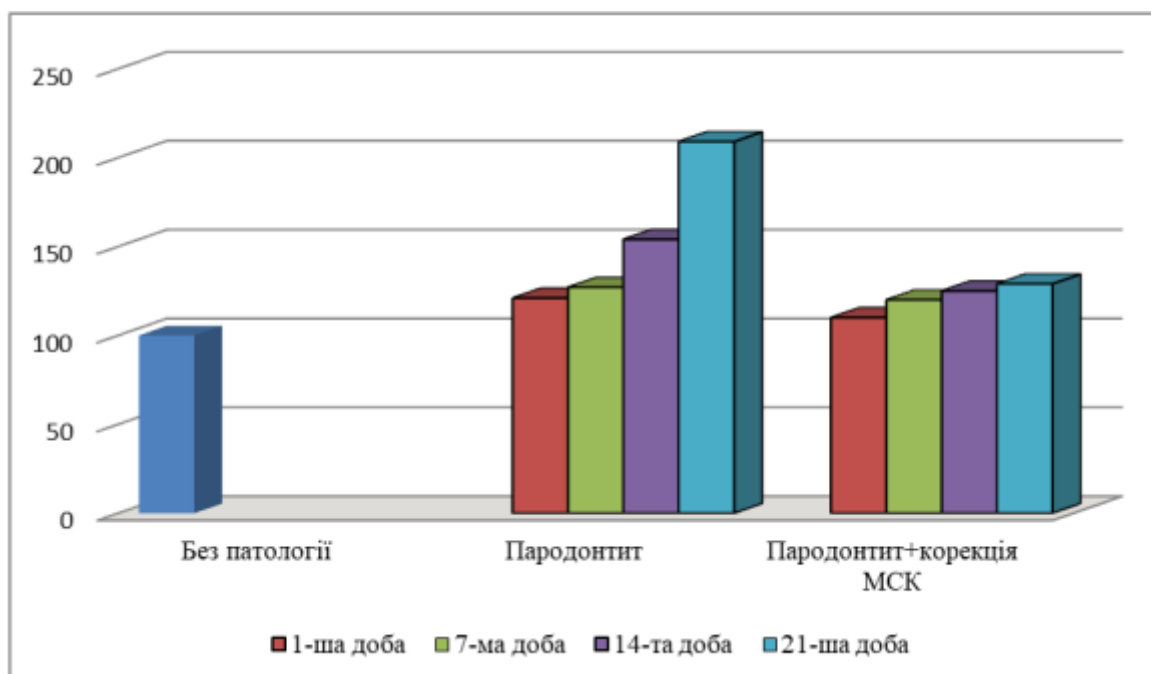


Рисунок 4.14 – Динаміка концентрації IgG у сироватці тварин з гострим пародонтитом та за корекції МСК, (%)

На першу добу спостереження рівень IgG у сироватці крові тварин, яким проводили корекцію із застосуванням МСК становив 109,7 % від аналогічного показника тварин без змодельованої патології, що, однак було достовірно більшим, ніж у тварин без корекції. Ця ж тенденція тривала і до завершення

експерименту – на 21-шу добу показник склав 128, 5 % від норми і 61,5 % від рівня тварин без корекції.

Отже, у тварин з гострим пародонтитом виявляється достовірне зростання CD4+-лімфоцитів, порушення пропорції основних субпопуляцій лімфоцитів (CD4+ і CD8+), що супроводжується достовірним зростанням імунорегуляторного індекса, а також порушення функціональності гуморальної ланки імунної системи, що проявляється дисбалансом імуноглобулінів в кров'яному руслі та зниженням резистентності гуморальної ланки імунної системи.

Застосування МСК суттєво вирівнює спричинений патологічним процесом дисбаланс імунної системи, сприяючи нормалізації імунорегуляторного індексу та основних класів імуноглобулінів.

4.3 Особливості цитокинового профілю у сироватці крові щурів з гострим пародонтитом та після проведення корекції мезенхімальними стовбуровими клітинами

Показники прозапальних цитокінів сироватки крові щурів, яким моделювали гострий пародонтит, як показано у таблиці 4.6, були достовірно вищими, ніж у тварин без змодельованої патології. Так, концентрація IL-1 β на 1-шу добу після моделювання патологічного процесу була достовірно вищою у 4,2, TNF- α – у 2,9, а IL-6 – у 2,8 рази вищою, ніж у тварин, яким пародонтит не моделювали. В усіх випадках різниця між показниками була достовірною (рис.). це призвело до суттєвого зростання коефіцієнта деструктивності (у 1,4 рази).

На 7-му добу концентрація IL1- β ще більше зросла і перевищувала рівень тварин без модельованої патології у 4,5 рази. Зміни показників TNF- α та IL-6 мали аналогічну спрямованість і на 7-му добу від моменту моделювання патологічного процесу перевищували відповідно у 3,5 рази

показники інтактних тварин. Натомість концентрація ІЛ-6 дещо зменшилась і склала 192 % від рівня тварин без патології. Менш виразним було також зростання коефіцієнта деструктивності – у 1,2 рази.

Таблиця 4.6 – Динаміка показників цитокінового профілю сироватки крові щурів з гострим пародонтитом і корекцією МСК

Група тварин/ доба	ІЛ-1 β пг/мл	TNF- α пг/мл	Коеф. деструктив- ності, ІЛ-1 β / TNF- α	ІЛ-6 пг/мл	ІЛ-10, пг/мл
Без патології	5,54 \pm 0,07	8,11 \pm 0,17	0,68 \pm 0,04	0,652 \pm 0,017	10,34 \pm 0,11
ПД 1 доба	23,11 \pm 0,16*	24,22 \pm 0,28*	0,95 \pm 0,06*	1,922 \pm 0,028*	19,86 \pm 0,12*
ПД 7 доба	25,10 \pm 0,32*	28,56 \pm 0,36*	0,88 \pm 0,09*	1,254 \pm 0,033*	12,27 \pm 0,14
ПД 14 доба.	14,72 \pm 0,26*	16,22 \pm 0,28*	0,91 \pm 0,10*	1,231 \pm 0,031*	9,52 \pm 0,13*
ПД 21 доба	11,79 \pm 0,47*	12,83 \pm 0,24*	0,92 \pm 0,09*	0,829 \pm 0,024	8,28 \pm 0,15*
ПД+кор 1 доба	18,33 \pm 0,21*#	21,14 \pm 0,13*#	0,87 \pm 0,08*#	1,312 \pm 0,021*#	22,18 \pm 0,14*#
ПД+кор 7 доба	15,37 \pm 0,22*#	19,27 \pm 0,16*#	0,80 \pm 0,07*#	1,132 \pm 0,022*#	18,54 \pm 0,13*#
ПД+кор 14 доба.	11,35 \pm 0,26*#	14,53 \pm 0,27*	0,78 \pm 0,08*#	0,924 \pm 0,019*#	14,18 \pm 0,17#
ПД+кор 21 доба	9,39 \pm 0,21*	12,21 \pm 0,13*	0,76 \pm 0,05#	0,833 \pm 0,018*	12,35 \pm 0,11#

До 14-ої доби концентрація досліджуваних прозапальних цитокінів суттєво знижувалась порівняно з попередніми термінами спостереження, проте достовірно перевищували рівень показників інтактних: IL1- β – у 2,7 рази, TNF- α – у 2 рази, IL-6 – у 1,8 рази, однак коефіцієнт деструктивності був вищим, ніж у попередній термін спостереження і склав 134 % від аналогічного показника тварин без патології (рис. 4.15).

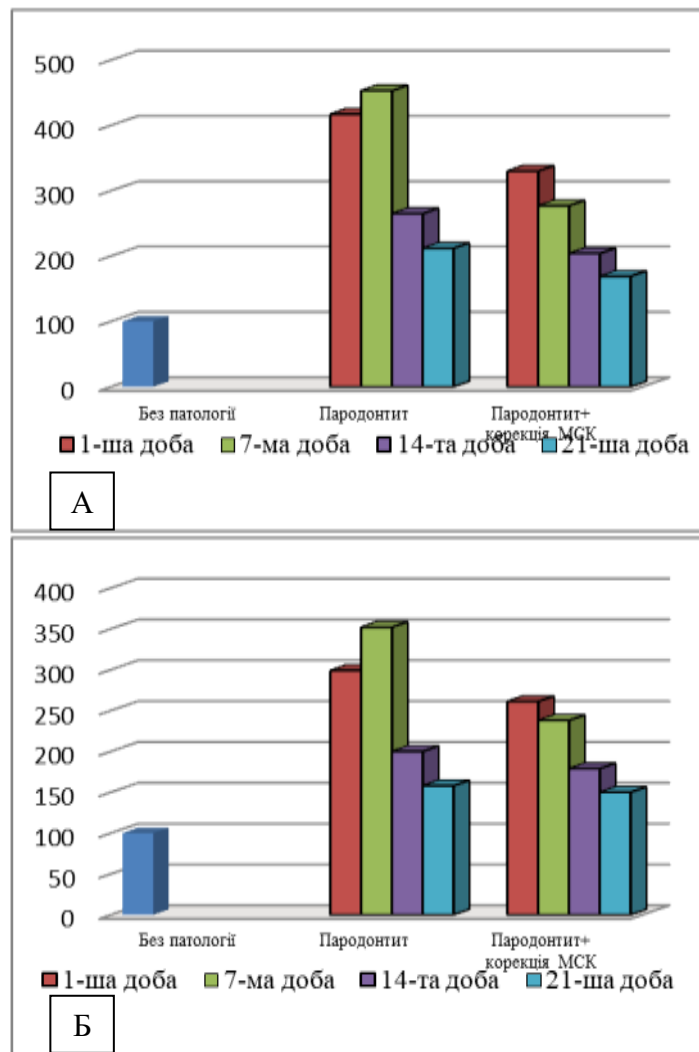


Рисунок 4.15 – Динаміка IL1- β (А) та TNF- α (Б) після моделювання пародонтиту та корекції МСК, %

На 21-шу добу концентрації досліджуваних прозапальних цитокінів сироватки крові й надалі зменшувались, проте були достовірно вищими від норми, зокрема, концентрація IL1- β у 2,1 рази, TNF- α в 1,6 рази, IL-6 – в 1,3

рази. Однак коефіцієнт деструктивності суттєво на змінювався порівняно з попереднім терміном спостереження – 134 % відносно тварин без патології.

Аналізуючи динаміку зміни концентрації прозапальних цитокінів варто відмітити їх односпрямованість, зокрема, максимальне зростання у початкові терміни спостереження (1-ша – 7-ма доби), та подальше зниження до 21-ої доби.

Концентрація протизапального ІЛ-10 вірогідно зростала на 1-шу добу (в 1,9 рази), тоді як у подальші терміни спостереження вона поступово зменшувалась і складала на 7-му добу 118,7 %, на 14-ту – 92,4 %, на 21-шу – 80,1 % стосовно тварин без змодельованої патології (рис. 4.16).

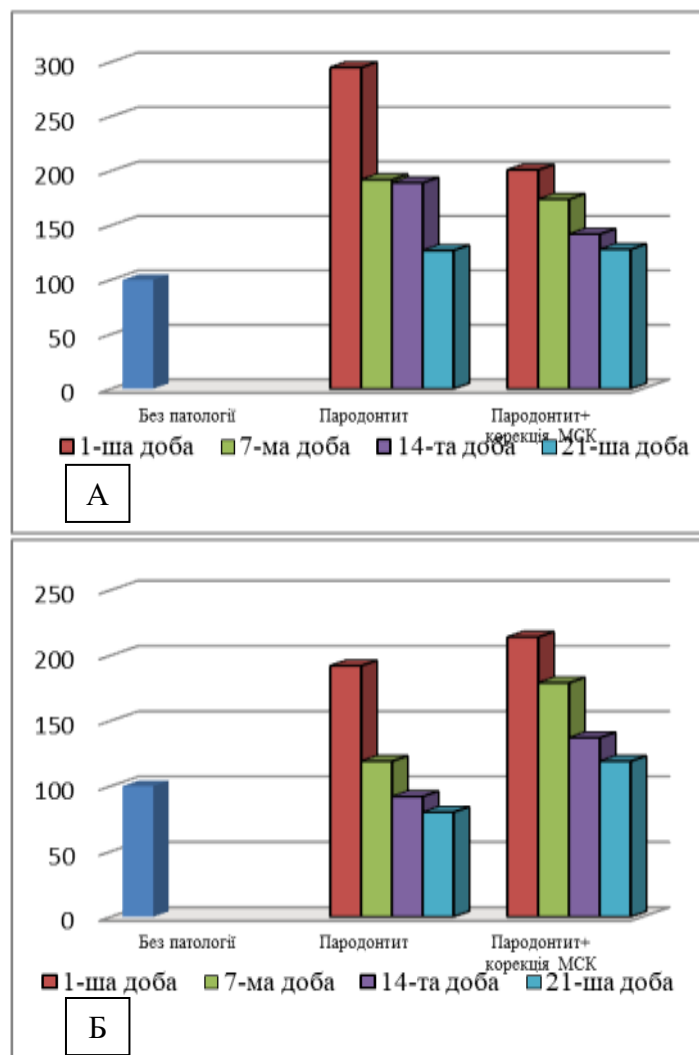


Рисунок 4.16 – Динаміка ІЛ-6 (А) та ІЛ-10 (Б) після моделювання пародонтиту та корекції МСК, %

Застосування стовбурових клітин з метаю корекції експериментального пародонтиту супроводжувалось зменшенням концентрації прозапальних цитокінів сироватки крові порівняно з тваринами, яким моделювали патологічний процес, однак корекції не проводили. Стовбурові клітини містять низку активних факторів, що можуть діяти як носій щодо клітин, які важливі для регенерації м'яких тканин пародонта і кісткової тканини. Так, показник IL1- β на 1-шу добу від моменту моделювання патологічного процесу у тварин даної групи переважав рівень тварин без змодельованої патології в 1,8 рази, однак був на 29,3 % нижчим, аніж в тварин, котрим моделювали пародонтит, проте корекції не проводили. Концентрація TNF- α також перевищувала рівень здорових тварин у 3,3 рази, що, однак, на 26 % менше, ніж у тварин без корекції. Аналогічну спрямованість мала також концентрація IL6 – показник був 2,6 рази більшим, аніж в нормі, проте нижчим від рівня тварин без змодельованої патології на 15 %. Коефіцієнт деструктивності в 1,3 рази перевищував норму, однак був на 9,3 % нижчим, ніж у тварин, яким стовбурові клітини не вводили.

На 7-му добу концентрація IL1- β була вищою від показника тварин без змодельованої патології у 2,8 рази та на 63 % меншою, ніж аналогічний показник тварин без корекції. Показники TNF- α та IL-6 за спрямованістю були майже аналогічними до показника IL1- β , перевищуючи норму відповідно у 2,4 та 1,7 рази відповідно, причому обидва показники були достовірно меншими, ніж у тварин, яким корекцію не проводили – на 48 та 10 % відповідно. Знижувався також коефіцієнт деструктивності. Він на 17,7 % перевищував показник здорових тварин і був на 10 % меншим, ніж у тварин без корекції.

На 14-ту добу після корекції концентрація прозапальних цитокінів й надалі зменшувалась. Зокрема, показник IL1- β у 2,1 рази у був в 1,3 раза меншим, ніж аналогічний показник тварин без корекції. Показники TNF- α та IL-6 перевищували норму відповідно в 1,8 та 1,4 рази, і також були

достовірно меншими, ніж у тварин, яким корекції не проводили – відповідно на 30 та 32 %.

Більш виразне зниження прозапальних цитокінів ми встановили на 21-шу добу експерименту. У цей термін спостереження концентрації IL-1 β , TNF- α та IL-6 перевищували рівень тварин без змодельованої патології в 1,7 рази, 1,5 та 1,3 рази. При цьому концентрації TNF- α та IL-6 були відповідно на 25,5 % та 4,9 % меншим, ніж у тварин без корекції. Коефіцієнт деструктивності у цей термін спостереження в 1,1 рази перевищував аналогічний показник тварин без змодельованої патології та був на 21,1 % меншим, ніж у тварин з пародонтитом, яким корекції не проводили.

Застосування стовбурових клітин як коригуючого чинника при експериментальному пародонтиті супроводжувалось вірогідним підвищенням концентрації IL-10 стосовно тварин без змодельованої патології та тварин з пародонтитом, яким корекцію не проводили. На 1-шу добу спостереження показник IL-10 перевищував аналогічний показник тварин без патології у 2,1 рази на 11,6 % перевищуючи рівень тварин без корекції.

У подальшому рівень IL-10 поступово знижувався, проте досліджуваний показник був вищим, ніж у тварин без уведення коригуючого чинника на 7-му добу на 51,1 %, 14-ту – на 48,9 %, 21-шу – на 49,1 %

Порівнюючи отримані дані до та після корекції можна зробити висновок щодо протизапального ефекту стовбурових клітин, який характеризувався зниженням концентрації прозапальних цитокінів, що посилено продукуються при запальному процесі у відповідь на ушкодження тканин пародонта у всі терміни спостереження, та гіперпродукцією протизапального IL-10, який може пригнічувати вироблення TNF- α та послаблювати його негативні ефекти.

4.4 Показники ендогенної інтоксикації у щурів з гострим експериментальному пародонтитом та після проведеної корекції мезенхімальними стовбуровими клітинами

Як показали отримані нами результати (табл. 4.7), при гострому експериментальному пародонтиті показники МСМ1 та МСМ2, які відображають, відповідно, вміст ланцюгових і ароматичних амінокислот у середньомолекулярних пептидах та продуктах їх розпаду, були підвищені уже з 1-ої доби після нанесення травми. Так, вміст МСМ1 в крові уражених щурів на першу добу посттравматичного періоду зріс у 1,6 рази, а вміст МСМ2 – відповідно у 1,8 рази порівняно з тваринами, яким патологічний процес не моделювали.

Через 7 днів після моделювання патологічного процесу рівень МСМ1 зріс ще більше і склав 183,8 % від показника тварин без патології, а МСМ2 – дещо зменшився, однак перевищував норму на 23,1 % (рис. 4.17). На 14-ту добу МСМ1 перебував на рівні 7-мої доби (189,7 %), а МСМ2 дещо зріс, склавши 156 % показника тварин без патології. До 21-ої доби обидва показники знижувались порівняно з попереднім терміном спостереження, при цьому МСМ1 склав 171,8 %, МСМ2 – 145 % відповідного показника тварин без змодельованої патології.

Таким чином, під впливом травми відмічалось збільшення концентрації в крові як МСМ1, так і МСМ2. Причому, зростання МСМ було значнішим для пулу МСМ1, що вказує на виражене збільшення ланцюгових амінокислот у складі фракції середніх молекул.

В ході експерименту встановлено, що вміст МСМ2, МСМ1 в крові щурів зменшувався при проведенні корекції (рис. 4.17). В групі тварин, яким проведена корекція МСК, виявлено зміни щодо вмісту обох фракцій МСМ. Вміст МСМ1 на 1-шу добу був на рівні показника тварин без корекції, однак на 57,2 % перевищував аналогічний показник тварин без патології.

Таблиця 4.7 – Динаміка показників ендогенної інтоксикації у щурів з гострим пародонтизом та корекцією МСК (М ± m)

Група тварин		Показник			
		МСМ1, ум. од. екст.	МСМ2, ум. од. екст.	ЕІ, %	ЦІК, ум. од/л
Без патології, n=12		327,6 ± 12,4	221,6 ± 8,2	27,38 ± 0,63	283,2 ± 5,9
Пародонтизм	1-ша доба, n=10	512,3 ± 13,4*	394,1 ± 9,6*	39,54 ± 0,64*	362,4 ± 9,3*
	7-ма доба, n=10	602,1 ± 15,7	272,9 ± 8,7*	41,32 ± 0,42*	396,4 ± 8,7*
	14-та доба, n=10	621,3 ± 17,2*	354,5 ± 9,2*	38,86 ± 0,38*	415,3 ± 11,2*
	21-ша доба, n=10	562,8 ± 11,6*	321,4 ± 8,1*	35,83 ± 0,46*	362,1 ± 9,4
Пародонтизм + корекція МСК	1-ша доба, n=10	514,3 ± 10,1*	381,2 ± 10,9*	38,27 ± 0,43*	338,7 ± 8,6*#
	7-ма доба, n=10	546,1 ± 9,2*#	353,7 ± 11,2*#	42,11 ± 0,33*	356,9 ± 9,1#
	14-та доба, n=10	474,4 ± 15,0*#	328,2 ± 6,7*#	29,81 ± 0,28#	372,5 ± 9,2#
	21-ша доба, n=10	421,5 ± 8,7*#	243,4 ± 8,5#	28,25 ± 0,35#	325,3 ± 9,5*#

Водночас показник МСМ2 знижувався більш суттєво і був нижчим від аналогічного показника тварин, яким корекцію не проводили (96,7 %), хоча й достовірно перевищував норму (172,3 %). На 7-му добу після моделювання патологічного процесу спостерігали різноспрямовані зміни досліджуваних показників: вміст МСМ1 дещо зріс відносно попереднього терміну спостереження і склав 166,9 % від норми, однак стосовно тварин без корекції

склав 90,7 %, а МСМ2 й надалі знижувався (159,6 % від показника тварин без патології). На 14-ту добу обидва показники знижувались: МСМ1 склав 144,9 % від норми і був на 31,7 % порівняно з показником тварин, яким корекцію не проводили, а МСМ2 перевищував норму на 47,7 % і був нижчим від показника тварин без корекції на 7,9 %. На 21-шу добу обидва показники суттєво знижувались. МСМ1 склав перевищував норму на 28,7 % і був на 33,4 % нижчим, ніж у тварин без корекції. Рівень МСМ2 до 21-ої доби на 9,9 % перевищував показник тварин без змодельованої патології і був на 11,9 % нижчим, ніж у тварин з пародонтитом, яким корекцію не проводили.

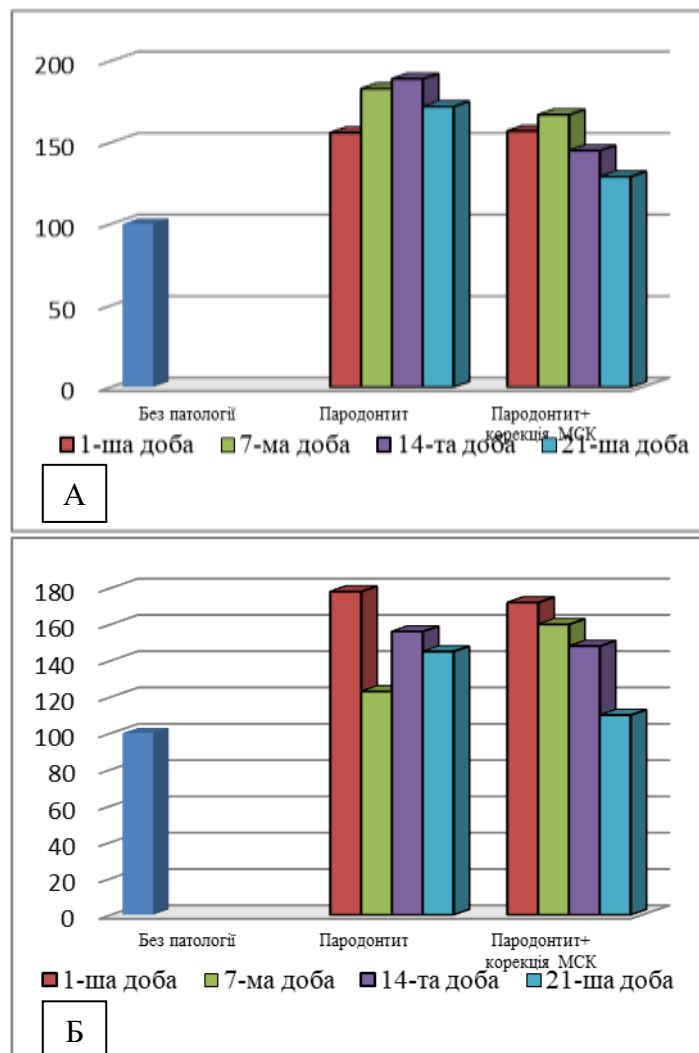


Рисунок 4.17 – Динаміка МСМ1 (А) та МСМ2 (Б) після моделювання пародонтиту та корекції МСК, %

Як видно з результатів проведених нами досліджень, одночасно із збільшенням рівня МСМ, збільшувався і сумарний токсичний вплив на мембрани еритроцитів, котрий проявлявся у достовірному підвищенні ЕП у всі терміни спостереження.

На першу добу ЕП у групі тварин, яким моделювали гострий пародонтит, зростав на 44,4 % відносно тварин без змодельованої патології. На 7-му добу спостереження цей показник зростав ще більше і склав 150,9 % від норми, знижуючись у подальші терміни спостереження (141,9 % на 14-ту і 130,8 % на 21-шу доби спостереження) (рис. 4.18).

Корекція із використанням МСК дозволила зменшити токсичний вплив на еритроцитарні мембрани, особливо у більш пізні терміни спостереження. На 1-шу добу після моделювання гострого пародонтиту уведення МСК не мало виразного ефекту – показник перебував майже на рівні аналогічного показника тварин без корекції і на 39,9 % перевищував рівень тварин, яким патологічний процес не моделювали. На 7-му добу тенденція не змінилась. До 14-ої доби нами зафіксовано достовірне зменшення ЕП як відносно здорових тварин (108,1 %), так і тих, яким моделювали гострий пародонтит, однак корекцію не проводили (76,7 %). До 21-ої доби ЕП достовірно не відрізнявся від рівня здорових тварин (103,1 %) і склав 78,8 % від аналогічного показника тварин, яким корекцію не проводили.

Ще одним показником, що характеризує рівень ендотоксемії є рівень ЦК. У нашому дослідженні цей показник зростав у тварин, яким моделювали гострий пародонтит. На 1-шу добу спостереження він склав 128 % від рівня тварин без змодельованої патології. У подальшому показник зростав і на 7-му добу на 40 % перевищував рівень здорових тварин. Максимальна концентрація була зафіксована на 14-ту добу – 146,7 % від норми, а до 21-ої доби рівень ЦК дещо зменшився – 127,9 % від рівня тварин без змодельованої патології.

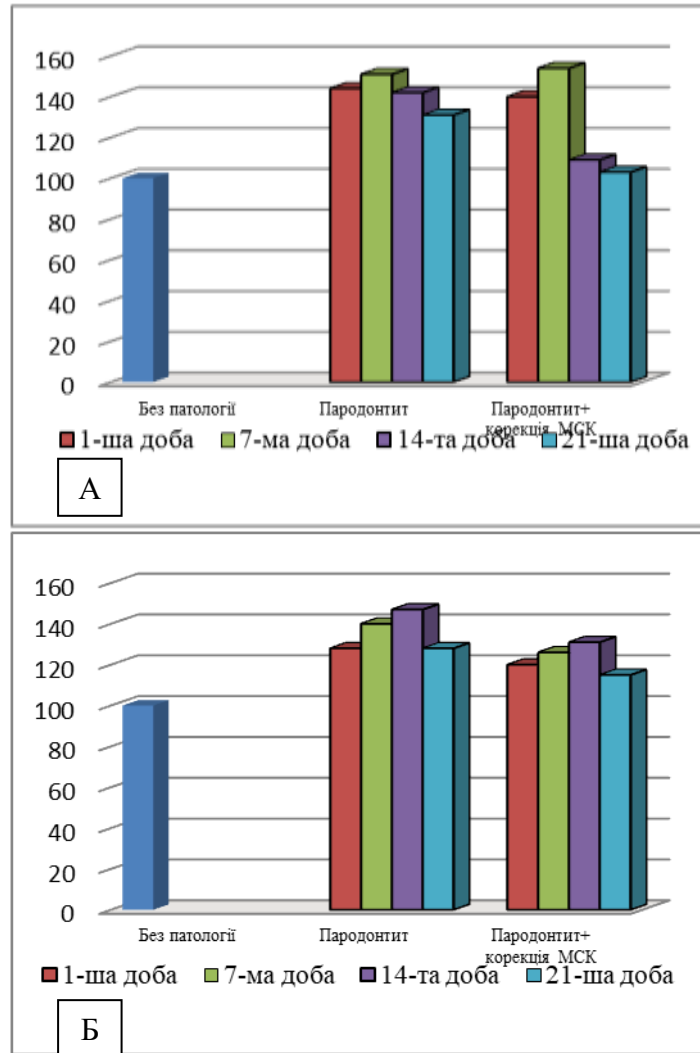


Рисунок 4.18 – Динаміка ЕІІ (А) та ЦІК (Б) після моделювання пародонтиту та корекції МСК, %

Застосування МСК як засобу корекції спричинилося до зниження рівня ЦІК. На 1-шу добу показник був на 7 % меншим, ніж у тварин без корекції і склав 105,3 % відносно тварин без змодельованої патології. До 7-ої доби відносно тварин без корекції показник ще більше зменшився (90,1 %), однак перевищував норму на 53,8 %. На 14-ту добу показник ЦІК і надалі знижувався стосовно тварин без корекції (89,7 %), все ж достовірно перевищуючи рівень здорових тварин (на 31,5 %). До 21-ої доби зниження продовжувалось і показник склав 114,9 % від норми, що на 11,3 % менше, ніж у тварин з пародонтитом без корекції (див. рис. 4.18).

4.5 Показники системи протеїнази/інгібітори протеїназ при гострому експериментальному пародонтиті та після проведеної корекції мезенхімальними стовбуровими клітинами

Проаналізувавши показники протеолітичної активності сироватки крові у щурів, котрим моделювали гострий пародонтит нами визначено, що упродовж усього експерименту вони були вищими, аніж у тварин, котрим патологічний процес не моделювали. Отож, лізис азоальбуміну на 1-шу добу після моделювання пародонтиту перевищував показник тварин без змодельованої патології і це становило 50,6 % (рис. 4.19). Аналогічні за спрямованістю зміни ми відзначили щодо лізису азоказеїну та азоколу. В свою чергу, показник лізису азоказеїну у вказаний термін спостереження був у 2,2, а лізис азоколу – у 2,1 рази вищим, на відміну від тварин без змодельованого патологічного процесу. В двох випадках різниця між значеннями показників була достовірною.

На 7-му добу спостереження значення лізису азоальбуміну незначно знизився, проте перевищував рівень тварин без змодельованої патології на 45,5 %. Значення ж лізису азоказеїну та азоколу зростали і на 7-му добу з моменту моделювання патологічного процесу становили 221,9 та 229,3 % від значень тварин, котрим пародонтит не моделювали. При цьому до 14-ої доби показники лізису азоальбуміну, азоказеїну та азоколу суттєво зменшувались, проте перевищували рівень тварин без змодельованої патології на 55,8 та 54,9 %. На 21-шу добу спостереження ми відзначили подальше зниження показників, які характеризують активність процесу протеолізу сироватки крові, однак і в даний період вони були вищими від норми. Таким чином, лізис азоальбуміну становив 113,4 %, азоказеїну – 142 %, азоколу – 137,8 % від аналогічних значень тварин без змодельованої патології.

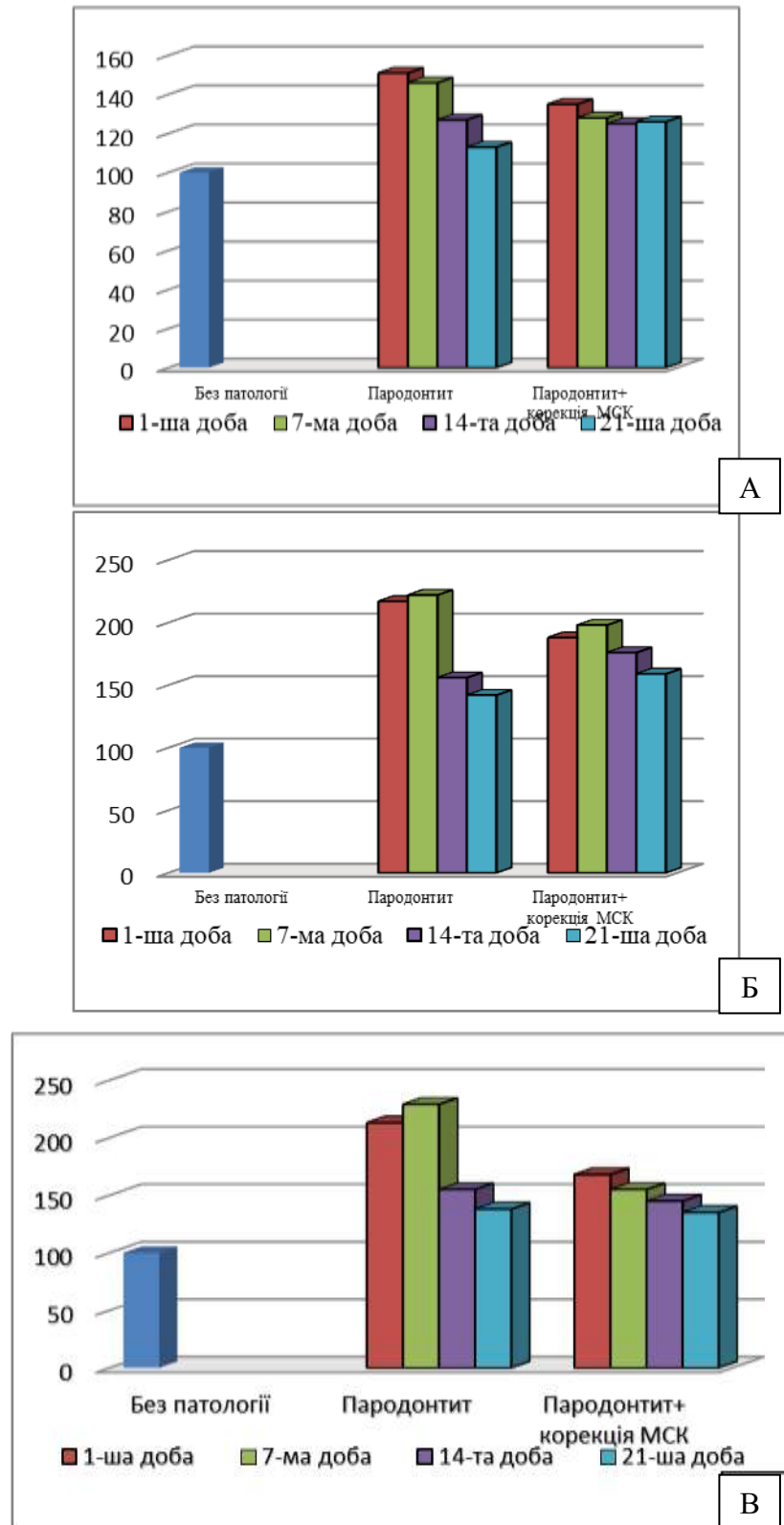


Рисунок 4.19 – Динаміка лізису азоальбуміну (А). азоказеїну (Б) та азоколу (В) у сироватці крові щурів після моделювання пародонтиту та корекції МСК, %

Використання МСК зумовило зменшення активності протеаз сироватки крові (табл. 4.8). Так, лізис азоальбуміну на 1-шу добу з моменту моделювання пародонтиту у тварин даної групи перевищував показник тварин без змодельованої патології в 1,4 раза, проте був на 11,4 % меншим, аніж у тварин, котрим моделювали пародонтит, але корекції не здійснювали. Лізис азоказеїну у свою чергу перевищував рівень здорових тварин у 1,9 раза, проте був на 15 % меншим, ніж у тварин без корекції. Схожу спрямованість мав лізис азоколу, який був у 1,7 рази вищим, ніж в нормі, однак меншим ніж рівень тварин без змодельованої патології на 26,8 %.

На 7-му добу спостережень активність протеолітичних процесів зменшувалась по відношенню до попереднього терміну спостереження. Таким чином, лізис азоальбуміну на 28,1 % перевищував значення тварин без змодельованої патології, лізис азоказеїну – на 98,2 %, азоколу – на 54,9 %. У порівнянні із показниками тварин, котрим корекції не здійснювали, лізис азоальбуміну був меншим на 13,6 %, лізис азоказеїну – на 11,9 %, азоколу – на 48 %. Суттєве зниження протеолітичної активності ми спостерігали на 14-ту добу експерименту. У даний термін спостереження лізис азоальбуміну перевищував рівень тварин без змодельованої патології на 25,3 % і значно не відрізнявся від показника тварин без корекції. Лізис азоказеїну був в незначній мірі вищим – перевищення щодо здорових тварин становило 75,9 %, що на 12,9 % більше, аніж у тварин без корекції. Лізис азоколу склав 145 % від значення тварин без змодельованої патології і був на 6,7 % нижчим, ніж у тварин, котрим корекція не здійснювалась. До 21-ої доби активність протеолітичних процесів знаходилась на попередньому рівні окрім значення лізису азоказеїну, котрий був меншим, аніж на 14-ту добу спостереження та становив 158,9 % від рівня тварин без патології, що склав на 10,8 % більше, ніж у тварин без корекції.

Таблиця 4.8 – Динаміка показників протеолітичної активності сироватки крові щурів з гострим пародонтитом та корекцією МСК (М ± m)

Група тварин		Показник		
		Лізис азоальбуміну, мл ⁻¹ × год ⁻¹	Лізис азоказеїну, мл ⁻¹ × год ⁻¹	Лізис азоколу, мл ⁻¹ × год ⁻¹
Без патології, n=12		2,53 ± 0,12	2,24 ± 0,13	0,82 ± 0,10
Пародонтит	1-ша доба, n=10	3,81 ± 0,07*	4,86 ± 0,11*	1,75 ± 0,09*
	7-ма доба, n=10	3,68 ± 0,09*	4,97 ± 0,14*	1,88 ± 0,07*
	14-та доба, n=10	3,22 ± 0,11*	3,49 ± 0,09*	1,27 ± 0,09*
	21-ша доба, n=10	2,87 ± 0,14	3,18 ± 0,10*	1,13 ± 0,12*
Пародонтит + корекція МСК	1-ша доба, n=10	3,42 ± 0,12*#	4,22 ± 0,12*#	1,38 ± 0,11*#
	7-ма доба, n=10	3,24 ± 0,10*#	4,44 ± 0,12*#	1,27 ± 0,13*#
	14-та доба, n=10	3,17 ± 0,13*	3,94 ± 0,10*#	1,19 ± 0,12*
	21-ша доба, n=10	3,18 ± 0,28*	3,56 ± 0,16*#	1,11 ± 0,18

Отже, застосування МСК знижує активність процесів протеолізу на початкових етапах патологічного процесу, що може відігравати важливу роль для пришвидшення процесів регенерації тканин пародонта, пошкоджених в результаті моделювання патологічного процесу.

Вміст білкових інгібіторів плазми крові також зазнавав суттєвих змін (табл. 4.9). На першу добу спостереження встановлено достовірне зростання інгібіторного потенціалу крові тварин, котрим моделювали гострий пародонтит. Таким чином, концентрація α_2 -МГ, зросла на 74,9 % від норми. Відносно α_1 -ІІІ, то його концентрація також збільшувалась, проте значно менше – на 9,1 % у порівнянні з тваринами без змодельованої патології. Менш виразне зростання інгібіторного потенціалу, поруч із значним

зростання протеолітичної активності, відзначилося на показнику індексу протеолізу – він зріс на 66,1 %.

Таблиця 4.9 – Динаміка показників інгібіторів протеаз сироватки крові щурів з гострим пародонтизом і корекцією МСК, (М ± m)

Група тварин		Показник		
		α_1 -ІІІ, мкмоль/л	α_2 -МГ, г/л	Індекс протеолізу
Інтактні, n=12		42,45±1,06	2,72 ± 0,12	0,124 ± 0,006
Пародонтизм	1-ша доба, n=10	46,27 ± 1,62	4,25 ± 0,09*	0,206 ± 0,011*
	7-ма доба, n=10	48,64 ± 1,17*	3,32 ± 0,14*	0,202 ± 0,014*
	14-та доба, n=10	35,33 ± 1,11*	2,38 ± 0,11*	0,212 ± 0,012*
	21-ша доба, n=10	41,22 ± 1,13	2,47 ± 0,08*	0,164 ± 0,009*
Пародонтизм + корекція МСК	1-ша доба, n=10	58,47 ± 1,37*#	3,42 ± 0,07*#	0,145 ± 0,011*#
	7-ма доба, n=10	46,67 ± 1,16*	3,35 ± 0,08*	0,219 ± 0,014*
	14-та доба, n=10	38,25 ± 1,09	2,54 ± 0,07	0,203 ± 0,012*
	21-ша доба, n=10	49,18 ± 1,02*#	2,98 ± 0,08#	0,150 ± 0,011*#

На 7-му добу експерименту концентрація α_1 -ІІІ значно знижувалась, у порівнянні з попереднім періодом спостереження, проте перевищувала рівень тварин без патології на 14,6 %, а α_2 -МГ – на 22,1 %. Проте, враховуючи на зростання у даний період протеолітичної активності крові, був вищим на 62,9 % від показника інтактних тварин. На 14-ту добу від моменту моделювання патологічного процесу вміст білкових інгібіторів в сироватці крові продовжував знижуватися. Концентрація α_1 -ІІІ склала 83,3 % по відношенню до тварин без патології, а α_2 -МГ – 86,8 %, що свідчить про виснаження антипротеазних резервів крові. Саме це є одним з чинників, які не дозволяють нормалізувати активність процесів протеолізу на фоні високої активності протеолітичних ензимів, що свідчить про достовірне зростання ІІІ

– у 1,7 раза. До 21-ої доби показники інгібіторів протеаз трохи зростали та суттєво не відрізнялись від показників тварин без змодельованої патології. Концентрація α_1 -ІІ склала 97,1 %, а α_2 -МГ– 88,9 % від рівня тварин без патології. Проте нормалізація активності антипротеаз не корелювала з активністю протеолітичних ензимів, тому показник був достовірно вищим, ніж у нормі і становив 132,3 %.

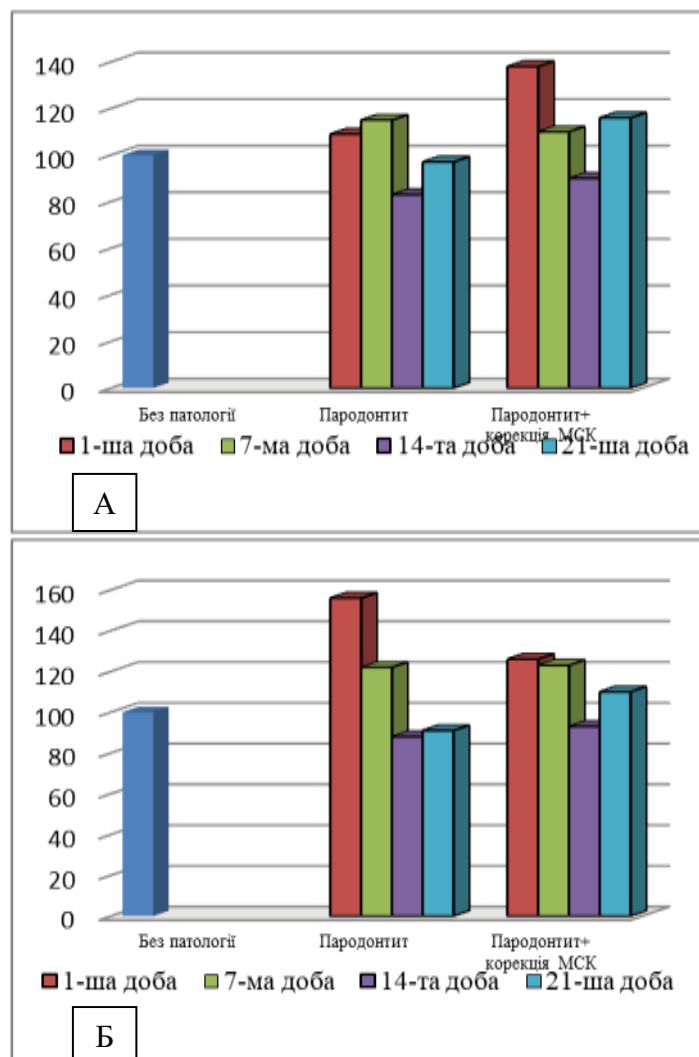


Рисунок 4.20 – Динаміка показника α_1 -ІІ (А) та α_2 -МГ (Б) у сироватці крові щурів з пародонтитом і корекцією МСК, %

Використання коригуючого фактора супроводжувалось суттєвим зсувом співвідношення протеази/інгібітори протеаз у бік переважання

процесів інгібування протеолізу. На 1-шу добу концентрація α_1 -ІІІ була на 37,7 %, а α_2 -МГ – на 25,7 % вищою, аніж в здорових тварин, проте меншою від аналогічних показників тварин без корекції на 27,1 та 24,3 %. Водночас, на фоні зростання протеолітичних процесів у даний термін відзначалось зростання індексу протеолізу на 16,9 % у порівнянні із інтактними тваринами, що, було на 42,1 % менше, ніж у тваринами без корекції. На 7-му добу спостереження ми відзначили нормалізацію інгібіторної активності сироватки крові. Концентрація α_1 -ІІІ склала 109,5 %, а α_2 -МГ – 123,2 % від рівня тварин без змодельованої патології, значно не відрізняючись від показників тварин без корекції. Проте був нижчим, ніж у групі тварин без корекції на 8,4 %, однак в 1,8 раза перевищував рівень інтактних тварин. До 14-тої доби спостереження показники антипротеазної системи крові практично нормалізувались – α_1 -ІІІ склав 110,9 %. α_2 -МГ – 107,1 % від норми, не відрізняючись від аналогічних показників тварин без корекції. Індекс протеолізу хоч і перевищував аналогічний показник інтактних тварин у 1,6 рази, однак був меншим від показника тварин без корекції. На 21-шу добу експерименту концентрація α_1 -ІІІ несуттєво перевищувала рівень інтактних тварин та становила 115,9 %, а α_2 -МГ – 109,6 %. При цьому індекс протеолізу також суттєво знизився і склав 120,9 % по відношенню до інтактних тварин, що на 9,3 % менше, аніж у групі, котрій корекцію не здійснювали.

Результати, що висвітлено у розділі, опубліковано у наукових працях автора [210-217].

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

На даний час поширеність запальних та дистрофічно-запальних захворювань пародонта серед населення України складає 96-98 %. Аналогічний рівень, відповідно до актуальних літературних даних, також зафіксований у більшості інших країн. Прогресування генералізованого пародонтиту спричиняє втрату кістки коміркового відростка щелеп, деформації щелепно-лицевої ділянки, змін у скронево-щелепному суглобі та передчасній втраті зубів [1]. Сучасний рівень знань дозволяє розглядати етіопатогенез захворювань пародонта як мультифакторну модель, що включає наявність мікробної інвазії (бактерійні пародонтопатогени), неадекватну захисну реакцію імунної системи або її відсутність, вплив негативних місцевих факторів порожнини рота [2].

У теперішніх умовах, внаслідок погіршення екологічної ситуації, нераціонального харчування, хронічного стресу розвиток та перебіг запальних захворювань пародонта в різних вікових групах населення набувають не тільки медичної, а й соціальної значимості [3]. Актуальність проблеми визначається швидким зростанням захворюваності, несвоєчасністю ранньої діагностики, рефрактерним перебігом процесу, суттєвими труднощами у досягненні стійкої ремісії, а також наявністю тісного зв'язку із загальним станом організму людини [1].

Метою лікування пародонтиту, на думку більшості авторів, є ліквідація запального процесу в пародонті, відновлення структурних та функціональних властивостей елементів пародонтального комплексу, попередження переходу запалення на глибші тканини, підвищення загальних і місцевих факторів захисту. Для підвищення ефективності лікування генералізованого пародонтиту необхідним є посилення регенераторного потенціалу тканин пародонта, особливо кісткової тканини. Враховуючи це, зростає цікавість

дослідження стовбурових стромальних клітин людини у тканинах пародонта. Проведення аналогічних досліджень створює можливість стимулювання росту кісткової тканини у даній категорії хворих та попередити передчасну втрату зубів [5]. Враховуючи це, зростає цікавість дослідження саме стовбурових стромальних клітин людини у тканинах пародонта. Вказані методи лікування є актуальними та необхідними для ефективного відновлення втраченої пошкодженої кісткової тканини при різних захворюваннях, особливо тканин пародонта [6].

Клітинні технології – це нова та перспективна галузь сучасної медицини. Клітинні технологи застосовуються сьогодні при лікуванні широкого спектру захворювань, і в багатьох випадках вже досягнуто значних успіхів; ще більше досліджень зараз перебуває на стадії преклінічних і клінічних випробувань. Стовбурні клітини є основою розвитку клітинних технологій. Вони необхідні для розробки нових методів замісної клітинної та тканинної терапії. Для реалізації можливостей клітинної терапії при лікуванні важких та інвалідизуючих захворювань, необхідно вміти легко та надійно керувати стовбуровими клітинами для їх успішного перетворення, пересадки та приживлення. Для цього необхідно, щоб стовбурові клітини могли достатньо швидко ділитися, утворювати необхідний тип клітин, не руйнуватись в організмі після пересадки, вrostати в навколишні тканини після пересадки, виконувати необхідні функції відповідно до типу клітин, не шкодити організму після пересадки.

Актуальність проблеми стовбурових клітин не викликає сумнівів. Клітинні технології із застосуванням стовбурових клітин – молода та перспективна галузь медицини. У майбутньому вчені сподіваються створювати зі стовбурових клітин тканини та цілі органи, необхідні для трансплантації та відновлення нормальної життєдіяльності організму реципієнта. Перевага цього методу полягає в тому, що тканини можна виростити з клітин самого пацієнта, і вони не викликатимуть реакції

відторгнення. Зокрема використання стовбурових клітин для відновлення та регенерації кісткової тканини відкриває широкі перспективи не тільки у пародонтології, а й у щелепно-лицьовій пластичній хірургії.

Враховуючи зазначене, ми поставили собі за мету з'ясувати особливості патологічних змін у тканині пародонта та організмі щурів при моделюванні гострого генералізованого пародонтиту та обґрунтувати доцільність використання мезенхімальних стовбурових клітин для їх корекції.

Найперше ми провели патоморфологічні дослідження тканин пародонта. Патоморфологічні дослідження показали, що при моделюванні пародонтиту вже на 7-му добу експерименту переважно у м'яких тканинах визначалися чіткі ознаки запального характеру, що проявлялися, розширенням просвіту кровоносних судин, їх повнокров'ям, набряком епітелію та підепітеліальної сполучної тканини, а також періодонтальної зв'язки. Поглиблювалася і розширювалася ясенна борозна, формуючи пародонтальну кишеню. У періодонтальній зв'язці спостерігалися вогнищеві поліморфоклітинні запальні інфільтрати. Інфільтрати іноді зустрічалися і у товщі кістки альвеолярного відростка щелепи з формуванням довкола них лімфо-лейкоцитарного валика і деструкцією самої кісткової тканини.

По мірі прогресування процесу запальні прояви посилювалися з нашаруванням на них деструктивних процесів та одночасним розвитком компенсаторних змін.

Щодо кровоносних судин, то по мірі збільшення тривалості модельованої патології їх стінки артерій потовщувалися, а просвіт звужувався. Потовщення стінок артерій відбувалося як за рахунок набряку, так і за рахунок гіпертрофії самих гладком'язових клітин, що підтверджувалося збільшенням їх розмірів. Такі зміни у артеріях спрямовані на зменшення гемодинамічного навантаження на гемомікроциркуляторне русло. Однак, не зважаючи на це, гемодинамічні порушення приводили до

розвитку периваскулярних набряків, які супроводжувалися потовщенням адвентиції судин за рахунок її розволокнення.

Іноді зустрічалися артерії з особливо потовщеними стінками, які нагадували артерії «замикаючого типу», що свідчить про їх активне функціональне навантаження за різних умов гемодинаміки (рис. 8). Для таких артерій характерною була наявність субінтимально розташованих пучків гладкої мускулатури поздовжнього спрямування, тобто так званих «поліпоподібних подушок», які здатні особливо інтенсивно впливати на швидкість і об'єм кровоплину. Відрізнити пучки поздовжньої гладкої мускулатури можна було по округлій формі зрізів їх ядер, так як при циркулярному розташуванні волокон їх ядра мають веретеноподібну форму.

Застосування методів корекції з використанням МСК людини, а також м'зових стовбурових клітин щура мало позитивний вплив на перебіг модельованого патологічного процесу. Поступово редукувалися ті морфологічні зміни, які були характерними для пародонтиту. Тобто, відновлювалося нормальне кровопостачання тканин. Артерії були менш повнокровними, знижувався тонус їх стінок. У результаті цього поступово спадав набряк тканин, вони набували вихідних розмірів. Зменшувалися і поступово зникали поля поліморфноклітинної інфільтрації. За рахунок остеобластів відновлювалася структура кістки альвеолярного відростка щелепи. Зменшувалися розміри пародонтальної кишені, а то вони і зовсім закривалися в результаті повної адгезії слизової оболонки ясен до зуба, яка піднімалася по його поверхні догори.

Основним механізмом пошкодження при травматичному ураженні є генерація активних форм кисню, які активують пероксидне окиснення ліпідів. Враховуючи недостатність системи антиоксидантного захисту, відбувається системне пошкодження клітинних мембран внаслідок пероксидації їх ліпідного шару. Як показали наші дослідження, патологічний процес у пародонті супроводжувався активізацією вільнорадикальних

процесів, зокрема збільшенням інтенсивності продукування активних форм кисню, найбільше зростання якого зафіксоване на 1-шу добу. У подальшому продукування АФК поступово знижувалось і до 21-ої доби показник майже не перевищував рівень тварин, яким патологічний процес не моделювали. За умов уведення МСК, продукування АФК було менш виразним, особливо у ранні терміни спостереження. Варто відмітити, що протягом усього експерименту показник був достовірно нижчим від рівня тварин без корекції у відповідні терміни. Аналогічна тенденція спостерігалась і стосовно початкових і проміжних продуктів ліпопероксидації – ГПЛ та ТБК-активних продуктів. Значне зростання у початкові терміни від моменту моделювання патологічного процесу у подальшому сповільнювалось і до завершення терміну експерименту суттєво не відрізнялось від показників тварин, яким патологічний процес не моделювали. Корекція із застосуванням МСК супроводжувалась менш інтенсивним зростанням ГПЛ та ТБК-активних продуктів, особливо у пізні терміни розвитку патологічного процесу. Подібною була динаміка і кінцевого продукту ліпопероксидного ланцюга – основ Шиффа, однак рівень їх зростання був суттєво вищим, ніж проміжних продуктів ліпопероксидації, при цьому навіть до 21-ої доби він був у 1,4 рази вищим від норми. Застосування МСК, як коригуючого засобу, спричинилося до зниження концентрації ШО. Протягом усього експерименту показники були нижчими, ніж у тварин без змодельованої патології і достовірно відрізнялись від аналогічних показників тварин з пародонтитом без корекції у відповідні терміни спостереження.

Поряд із зростанням процесів ліпідної пероксидації, відбувалося підвищення інтенсивності окиснювальної модифікації білків, причому це стосувалося обох їх фракцій – $ОМБ_{370}$ і $ОМБ_{430}$. Так, на 1-шу добу спостереження показник $ОМБ_{370}$ зріс в 1,6 рази відносно інтактних тварин з подальшим зниженням до 21-ої доби. У тварин з пародонтитом, яким вводили МСК зростання $ОМБ_{370}$ було менш інтенсивним і на 21-шу добу

показник був лише на 13,8 % вищим, ніж у тварин без змодельованої патології і достовірно нижчим від рівня тварин, яким корекцію не проводили. Аналогічна тенденція спостерігалась і стосовно OMB_{430} .

Позаяк активність вільнорадикальних процесів залежить не тільки від інтенсивності продукування активних форм кисню, а й від їх здатності започатковувати ланцюги ліпопероксидації чи окислювальної модифікації білків, нами було досліджено стан ферментної і неферментної ланок антиоксидантної системи, яка, власне, і протидіє розгалуженню цих вільнорадикальних ланцюгів.

Нами встановлено, що супероксиддисмутазна активність у гемолізаті еритроцитів через 24 год. від моменту моделювання патологічного процесу достовірно зросла порівняно з показником тварин без змодельованої патології, однак у подальшому була достовірно нижчою від норми протягом усього експерименту, хоча до 21-ої доби дещо зросла до рівня 14-ої доби. Уведення МСК мало значний позитивний вплив на цей показник – протягом усього дослідження ми спостерігали однакові за спрямованістю зміни – зростання супероксиддисмутазної активності відносно тварин, яким корекція не проводилась.

Каталазна активність зазнавала аналогічних за спрямуванням змін. У тварин з гострим експериментальним пародонтитом на 1-шу добу спостереження спостерігалось незначне підвищення ензимної активності, а у подальші терміни каталазна активність знижувалась. Застосування МСК спричинилося до зміни динаміки цього показника – ми спостерігали зростання каталазної активності як відносно здорових тварин, так і тих, яким не проводили корекції.

Отже, введення МСК супроводжується не тільки сповільненням продукування АФО і активності процесів ліпопероксидації, а й зміною активності антиоксидантних ферментів I лінії захисту – СОД і каталази.

Суттєвих змін зазнавав ще один показник, що є основним антиоксидантом сироватки крові – церулоплазмін. Через добу від моменту моделювання патологічного процесу концентрація ЦП достовірно зросла, однак у наступні терміни спостереження (7-ма і 14-та доби) ми спостерігали суттєве зниження концентрації церулоплазміну, а до 21-ої доби концентрація ЦП нормалізувалась і достовірно не відрізнялась від показника інтактних тварин. За корекції із застосуванням МСК динаміка змін ЦП була дещо іншою: на 1-шу добу спостереження вона достовірно перевищувала показник здорових тварин і тварин з пародонтитом без корекції, а у подальші терміни спостереження рівень ЦП дещо знижувався, однак у порівнянні з показником тварин без корекції показники були достовірно вищими. До 21-ої доби рівень ЦП нормалізувався відносно тварин без змодельованого патологічного процесу, а також суттєво не відрізнявся від показника тварин, яким корекції не проводили.

Аналогічну за спрямуванням динаміку продемонстрував ще один розрахунковий показник – загальна антиоксидантна властивість плазми крові. Ми також відмітили незначне зростання цього показника на першу добу після моделювання пародонтиту з подальшим зниженням до 14-ої доби і деяким підвищенням на 21-шу добу. Застосування МСК супроводжувалось менш виразним, ніж у групі тварин без корекції, зростанням ЗААП на 1-шу добу з подальшою нормалізацією до 21-ої доби.

Важливе значення у захисті від надмірної кількості вільнорадикальних продуктів відіграє глутатіонова система. Основним компонентом цієї системи є відновлений глутатіон, який, за рахунок сульфгідрильних груп здатен нейтралізувати вільнорадикальні продукти. У тварин із змодельованим гострим пародонтитом нами зафіксовано достовірне зниження концентрації відновленого глутатіону в усі терміни спостереження. Це вказує на витрачання відновлюваних еквівалентів з метою зменшення накопичення вільнорадикальних сполук.

Ензимом, який забезпечує цей процес, є глутатіонпероксидаза. На початкових етапах патологічного процесу пероксидазна активність достовірно зростала, а з 14-ої доби знижувалась, що може свідчити про виснаження ензимного потенціалу. Застосування МСК супроводжувалось нормалізацією глутатіонпероксидазної активності. На ранніх етапах показник суттєво не відрізнявся від значень тварин без змодельованої патології, у подальшому він дещо знижувався відносно здорових тварин, однак у порівнянні з аналогічними показниками тварин без корекції показник був достовірно вищими. Ще одним важливим ензимом, що забезпечує відновлення сульфгідрильних груп є глутатіонредуктаза. Проведені нами дослідження вказують на достовірне зниження глутатіонредуктазної активності у тварин, яким моделювали гострий пародонтит. За корекції МСК зниження ензимної активності було менш виразним, ніж у тварин, яким корекцію не проводили.

Отже, моделювання гострого пародонтиту спричинилося до зростання факторів антиоксидного захисту на ранньому етапі патологічного процесу з подальшим виснаженням антиоксидантних резервів, що може призвести до надмірного зростання активності вільнорадикальних процесів та ушкодження тканин пародонта. Корекція із застосуванням МСК мала позитивний ефект, згладжуючи зміни, що виникали.

Оксидативний стрес, що розвивається при гострому ураженні пародонта, супроводжується гіперпродукуванням вільних радикалів на фоні виснаження ендогенних антиоксидантних резервів [218]. Ряд дослідників вказують на те, що МСК виступають відповідними модуляторами інших фізіопатологічних процесів, включаючи запалення та регенерацію тканин. Ці явища опосередковуються за рахунок вивільнення факторів росту, цитокінів та позаклітинних матрицевих модуляторів, які послідовно сприяють реваскуляризації пошкодженої тканини за рахунок індукції міграції, проліферації, диференціювання та стабілізації ендотеліальних клітин у нових

кровоносних судинах; відновлення пошкодженої сполучної тканини шляхом міграції, проліферації та активації фібробластів та її проліферацію та диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин на різні типи клітин. З цих причин МСК використовуються в регенеративній медицині для лікування декількох клінічних станів, включаючи виразки, опіки, відновлення м'язів, кісткові захворювання та відновлення тканин після операції тощо [7].

Порівняльне дослідження функціональної активності нейтрофілів показало, що розвиток запалення в яснах характеризувався збільшенням вмісту активних нейтрофілів у периферичній крові. Зокрема, на початкових термінах експерименту показник сНСТ-тесту був достовірно вищим від аналогічного показника тварин, яким не проводили моделювання патологічного процесу. У ще більшій мірі змінювався показник індукованого НСТ-тесту, що призвело до зростання показника резерву. Збільшення показника резерву відображає зростання функціональних резервів нейтрофілів, характерне для запалення. На це ж вказує і збільшення коефіцієнта метаболічної активації нейтрофілів. На 7-му добу з моменту моделювання пародонтиту показники сНСТ-тесту і іНСТ-тесту дещо знизилися стосовно рівня щурів, яким пародонтит не моделювали, однак ПР і коефіцієнт активації нейтрофілів ще більше зросли порівняно з 1-ою добою. У подальші терміни спостереження значення як спонтанного, так і стимульованого НСТ-тестів знижувались, показник резерву, а також коефіцієнт активації нейтрофілів до 21-ої доби були навіть меншими, ніж у тварин без змодельованої патології, що вказує на виснаження функціональних резервів нейтрофілів. Дослідження функціональної активності нейтрофілів периферичної крові у щурів із пародонтитом, яким проводили корекцію МСК, показало зниження інтенсивності дихального вибуху в поліморфно-ядерних лейкоцитах. На ранніх термінах експерименту значення як спонтанного, так і стимульованого НСТ-тесту були нижчими

порівняно з тваринами, у яких корекцію не проводили. Показник резерву, а також коефіцієнт активації нейтрофілів перебували на рівні здорових тварин, достовірно відрізняючись від аналогічних показників без корекції. Така тенденція спостерігалась і у подальші терміни спостереження, зокрема до 21-ої доби показники сНСТ-тесту і зНСТ-тесту достовірно не відрізнялись від аналогічних показників тварин без змодельованої патології, будучи, однак, достовірно нижчими, ніж у тварин, яким проводили корекцію із застосуванням.

Отже, отримані результати свідчать про те, що застосування МСК здійснює вплив на функціональний стан нейтрофілів та активність у них оксигензалежних процесів. Запальний процес, що виникає у пародонті щурів за умов корекції характеризується більш низькими показниками сНСТ-тесту та іНСТ-тесту в порівнянні із тваринами, яким корекцію не проводили. Зниження метаболічних і оксидативних процесів в осередку ушкодження супроводжується зниженням активності оксидативних процесів, що зумовлює зменшення інтенсивності пошкодження тканин у щурів з гострим пародонтитом.

Важливе значення у розвитку і перебігу патологічного процесу посідає клітинна ланка імунітету. У наших дослідженнях відмічено значне зростання показників CD4⁺ на початкових етапах пародонтологічного процесу відносно аналогічного показника тварин без змодельованої патології. У подальшому рівень CD4⁺ клітин знижувався і до 21-ої доби суттєво не відрізнявся від рівня тварин, яким патологічний процес не моделювали. Після уведення МСК зростання рівня CD4⁺ було менш виразним порівняно з тваринами, яким корекцію не проводили і до завершення терміну експерименту від досягнув показника тварин, яким корекцію не проводили. Аналогічною була динаміка рівня клітин CD8⁺. У тварин яким моделювали пародонтит їх вміст достовірно зростав на 1-шу добу спостереження а у подальшому знижувалась і до 21-ої – показник був меншим від норми. За умов уведення МСК, рівень

CD8+ клітин знижувався стосовно рівня тварин, яким корекцію не проводили і до 21-ої доби наближався до показника тварин без змодельованої патології і був дещо вищим від показника тварин, яким корекцію не проводили.

Подібна тенденція спостерігалась і стосовно динаміки регуляторного індексу CD4+/CD8+. Зокрема у тварин з гострим пародонтитом на 1-шу добу він був дещо вищим від аналогічного показника інтактних тварин, з подальшим зниженням до 21-ої доби, коли показник склав досяг рівня тварин, яким моделювання пародонтиту не проводили. У тварин, яким проводили корекцію із застосуванням МСК, на першу добу спостереження показник CD4+/CD8+ становив не відрізнявся від аналогічного показника тварин без змодельованої патології, що, однак, було достовірно меншим, ніж у тварин без корекції. На 21-шу добу показник досягав рівня тварин без змодельованої патології..

На сьогодні імунорегуляторний індекс оцінюють у зіставленні з фазою імунної відповіді. У період розпалу клінічних проявів запального процесу імунорегуляторний індекс сягає високих значень за рахунок великого відсоткового вмісту Т-хелперів (CD4+ Т-клітин). У період реконвалесценції значення показника зменшується у зв'язку з наростанням рівня CD8+ Т-клітин. Порушення такої закономірності свідчить про неадекватність імунної реакції та про можливість хронізації процесу через неповну ерадикацію збудника.

Таким чином, у тварин з гострим пародонтитом виявляється зростання показника CD4⁺-лімфоцитів одразу після моделювання патологічного процесу і його суттєве зниження у наступні терміни спостереження, порушення співвідношення основних субпопуляцій лімфоцитів (CD4⁺ і CD8⁺). Виявлена недостатність клітинної ланки імунної відповіді відображає наявність системних порушень імунного захисту за умов змодельованого патологічного процесу.

Аналогічна тенденція спостерігалась і стосовно рівня клітин CD3+ – корекція із застосуванням МСК супроводжувалась менш інтенсивним їх зростанням і до 21-ої доби показник достовірно не відрізнявся від аналогічного показника тварин без змодельованої патології.

За умов експериментального гострого пародонтиту вміст клітин CD20+ у сироватці крові перевищував показник здорових щурів у 1,7 рази. До 14-ої доби досліджуваний показник дещо знижувався впродовж всього експерименту, однак і до 21-ої доби достовірно перевищував рівень тварин без змодельованої патології. Застосуванням МСК супроводжувалось менш інтенсивним наростанням CD20+ клітин у ранні терміни спостереження, що свідчить про менший руйнівний вплив запального процесу на цьому етапі патологічного процесу.

Для оцінки стану гуморального імунітету при експериментальному гострому пародонтиті нами було визначено рівень основних класів імуноглобулінів у сироватці крові. При проведенні нами дослідження показників гуморального імунітету показали, що на 1-шу добу гострого пародонтиту продукція сироваткових імуноглобулінів класу А значно зростала стосовно рівня тварин без змодельованої патології, а до 7-ої доби від моменту моделювання патологічного процесу цей показник дещо знизився, однак все ж достовірно відрізнявся від рівня здорових тварин. У подальшому продукування IgA ще більше знижувалось, однак перебувало на достовірно вищому рівні від показника тварин, яким патологічний процес не моделювали. За умов уведення МСК, продукування IgA було менш інтенсивним, ніж у тварин без корекції, проте показники були достовірно вищими, ніж у тварин без змодельованого патологічного процесу.

Подібна тенденція спостерігалась і стосовно імуноглобулінів класу М. Зокрема, вміст IgM у сироватці крові тварин з гострим пародонтитом на 1-шу добу після моделювання патологічного процесу становив був вищим в 1,8 раза від аналогічного показника інтактних тварин, з подальшим

зниженням до 21-ої доби, однак і в цей термін показник був достовірно вищим від рівня тварин, яким моделювання пародонтиту не проводили. Корекція із застосуванням МСК також супроводжувалась зростанням IgM, проте менш вираженим, ніж у тварин без корекції.

За умов експериментального гострого пародонтиту на 1-шу добу від моменту моделювання патологічного процесу вміст імуноглобулінів класу G у сироватці крові зростав значно менше, ніж IgA та IgM, однак його подальше зростання зафіксовано у наступні терміни спостереження і до 21-ої доби IgG склав у 2,1 рази був вищим від норми. На першу добу спостереження рівень IgG у сироватці крові тварин, яким проводили корекцію із застосуванням МСК становив суттєво не відрізнявся від аналогічного показника тварин без змодельованої патології. До завершення експерименту спостерігалось менш значне зростання IgG, ніж у тварин з пародонтитом, яким корекцію не проводили.

Отже, у тварин з гострим пародонтитом виявляється достовірно зростання CD4⁺-лімфоцитів, порушення співвідношення основних субпопуляцій лімфоцитів (CD4⁺ і CD8⁺), а також порушення функціональності гуморальної ланки імунної системи, що проявляється дисбалансом імуноглобулінів в кров'яному руслі та зниженням резистентності гуморальної ланки імунної системи. Застосування МСК частково вирівнює спричинений патологічним процесом дисбаланс імунної системи, сприяючи нормалізації імунорегуляторного індексу та основних класів імуноглобулінів.

За умови травми м'язів руйнується цілісність плазматичної мембрани міоволокна та базальної пластинки, що веде до зростання в клітині рівня позаклітинного кальцію та у підсумку призводить до деградації м'язових білків та некрозу [219,220]. Клітини запалення, які сприяють очищенню та відновленню некротичної тканини, домінують у місцевій реакції на пошкодження [221,222]. Ці клітини вивільняють розчинні молекули,

головним чином цитокіни, які, як правило, функціонують як міжклітинні месенджери в аутокринному режимі, зв'язуючись із клітиною свого походження, або в паракринному режимі, зв'язуючись із рецепторами сусідньої клітини-мішені [223]. Оскільки цитокіни діють не тільки локально, тому місцеве запалення супроводжується системною реакцією. При цьому, за умови значного пошкодження м'язів порушення балансу між про- та протизапальною реакцією може спричинити генералізовану відповідь, яка, у свою чергу, може зумовити поліорганну недостатність [223].

В механізмах індукції регенерації тканини пародонта основну функцію виконують фактори росту. зокрема тромбоцитарний, трансформуючий фактор росту – 1, тромбоцитарний фактор ангіогенезу, інсуліноподібний фактор росту, остеокальцин, остеонектин, фібриноген тощо [224,225]. Їх дія проявляється локально за рахунок залучення недиференційованих клітин до нового сформованого матриксу і запуску клітинного поділу в ділянці ушкодження. Однак ці механізми потребують уточнення та додаткового вивчення.

Показники прозапальних цитокінів сироватки крові щурів, яким моделювали гострий пародонтит, були достовірно вищими, ніж у тварин без змодельованої патології. Так, концентрація IL-1 β на 1-шу добу після моделювання патологічного процесу перевищувала у 4,2, TNF- α – у 2,9, а IL-6 – у 2,8 рази показники тварин, яким пародонтит не моделювали. Це призвело до суттєвого зростання коефіцієнта деструктивності (у 1,4 рази).

На 7-му добу концентрація IL1- β ще більше зросла і перевищувала рівень тварин без модельованої патології у 4,5 рази. Зміни показників TNF- α та IL-6 мали аналогічну спрямованість і на 7-му добу з моменту моделювання патологічного процесу перевищували відповідно у 3,5 рази показники інтактних тварин. Натомість концентрація IL-6 дещо зменшилась стосовно рівня тварин без патології. Менш виразним було також зростання коефіцієнта деструктивності – у 1,2 рази.

До 14-ої доби концентрація досліджуваних прозапальних цитокінів суттєво знижувалась порівняно з попередніми термінами спостереження, проте достовірно перевищували рівень показників інтактних: IL-1 β – у 2,7 рази, TNF- α – у 2 рази, IL-6 – у 1,8 рази, однак коефіцієнт деструктивності був вищим, ніж у попередній термін спостереження і склав 134 % від аналогічного показника тварин без патології.

На 21-шу добу концентрації досліджуваних прозапальних цитокінів сироватки крові й надалі зменшувались, проте були достовірно вищими від норми, зокрема, концентрація IL-1 β у 2,1 раза, TNF- α в 1,6 рази, IL-6 – в 1,3 рази. Однак коефіцієнт деструктивності суттєво на змінювався порівняно з попереднім терміном спостереження і у 1,3 рази перевищував показник тварин без патології.

За умови гострого пародонтиту руйнується цілісність плазматичної мембрани тканин пародонта, що веде до зростання в клітині рівня позаклітинного кальцію та у підсумку призводить до деградації білків та некрозу. Клітини запалення, які сприяють очищенню та відновленню некротичної тканини, домінують у місцевій реакції на пошкодження. Ці клітини вивільняють розчинні молекули, головним чином цитокіни, які, як правило, функціонують як міжклітинні месенджери в автокринному режимі, зв'язуючись із клітиною свого походження, або в паракринному режимі, зв'язуючись із рецепторами сусідньої клітини-мішені.

Аналізуючи динаміку зміни концентрації прозапальних цитокінів варто відмітити їх односпрямованість, зокрема, максимальне зростання у початкові терміни спостереження (1-ша – 7-ма доби), та подальше зниження до 21-ої доби.

Концентрація протизапального IL-10 вірогідно зростала на 1-шу добу (в 1,9 рази), тоді як у подальші терміни спостереження вона поступово зменшувалась і до 21-ої доби була достовірно нижчою стосовно тварин без змодельованої патології.

За даними Чорноморець П.М. та Нурищенко Н.Є., специфічною особливістю запалення є здатність тканин із зони запалення до секреції медіаторів запалення, зокрема, IL1- β , TNF- α та IL-6, які є хемотактичними агентами для нейтрофілів та інших імунокомпетентних клітин, внаслідок чого лейкоцити мігрують до пошкодженої ділянки та зумовлюють розвиток запалення. Патогенетично слід відмітити гіперпродукцію активних форм кисню нейтрофілами та активацію процесів вільнорадикального окиснення у локусі запалення, що є типовим патологічним процесом та ключовим пошкоджуючим чинником.

Застосування стовбурових клітин з метою корекції експериментального пародонтиту супроводжувалось зменшенням концентрації прозапальних цитокінів сироватки крові порівняно з тваринами, яким моделювали патологічний процес, однак корекції не проводили. Стовбурові клітини містять низку активних факторів, що можуть діяти як носій щодо клітин, які важливі для регенерації м'яких тканин пародонта і кісткової тканини. Знижувався також коефіцієнт деструктивності.

Використання стовбурових клітин як коригуючого чинника при експериментальному пародонтиті супроводжувалось вірогідним підвищенням концентрації IL-10 стосовно тварин без змодельованої патології та тварин з пародонтитом, яким корекцію не проводили.

Порівнюючи отримані дані до та після корекції можна зробити висновок щодо протизапального ефекту стовбурових клітин, який характеризувався зниженням концентрації прозапальних цитокінів, що посилено продукуються при запальному процесі у відповідь на ушкодження тканин пародонта у всі терміни спостереження, та гіперпродукцією протизапального IL-10, який може пригнічувати вироблення TNF- α та послаблювати його негативні ефекти.

За даними P. Vendinelli та співавт. [226] протизапальний ефект стовбурових клітин реалізується шляхом редукції експресії COX2 і CXCR4

генів, які беруть участь в реакціях запалення. При цьому, інші наукові дані засвідчують анальгетичні властивості стовбурових клітин, їх здатність зменшувати набряки м'яких тканин при ураженнях різного генезу, вплив на ангиогенез та неоваскуляризацію.

Ендогенна інтоксикація – це складний багатокомпонентний процес, зумовлений патологічною біологічною активністю ендогенних продуктів або дисфункцією систем природної детоксикації. При різних патологічних процесах в організмі виникають значні загальні і локальні зміни, що призводять до пошкодження органів і тканин [227, 228]. При цьому руйнуються або пошкоджуються тканинні елементи, змінюються рецепторні поля, порушується цілісність кровоносних і лімфатичних судин. Вивільнення фізіологічно активних речовин, зокрема протеолітичних ферментів і біогенних амінів, викликає вторинне пошкодження. Оксидативний стрес викликає пошкодження в організмі біомакромолекул, що призводить до накопичення недоокиснених продуктів окисної модифікації білків, деградації ліпідних компонентів, нуклеотидів, пігментів та утворення значної кількості молекул середньої маси (МСМ).

Підвищення вмісту МСМ1, до складу котрих можуть входити олігопептиди, фрагменти нуклеїнових кислот, вищих жирних кислот, триацилгліцеролів, свідчить про порушення структури клітинних мембран, а МСМ2, компонентами котрих можуть бути пуринові основи, сечова кислота, та ароматичні амінокислоти – про пригнічення детоксикуючої функцій печінки та деструктивні зміни в тканинах.

Істотна особливість МСМ полягає в їх чітко вираженій високій біологічній активності. Накопичення МСМ є не тільки маркером ендотоксикозу, в подальшому вони посилюють перебіг патологічного процесу, набуваючи ролі вторинних токсинів, впливаючи на життєдіяльність всіх систем і органів. Показник рівня МСМ вважають основним біохімічним маркером, що відображає рівень патологічного білкового метаболізму.

Ендотоксикози є закономірним наслідком несприятливого впливу зазначеного чинника на органи і системи організму в цілому і характеризуються неспецифічним синдромом ендогенної інтоксикації (СЕІ). Він не тільки супроводжує гостру і хронічну патологію, проте й сам по собі є важливим фактором їх патогенезу, визначає перебіг та наслідки захворювання. Вважається, що СЕІ – це отруєння організму як кінцевими (надмірне накопичення, затримка елімінації), так і проміжними продуктами метаболізму за глибокого порушення обміну речовин з характерним фазовим перебігом – від початкових змін які відбуваються після ушкодження тканин до ендотоксикозу як самостійного типового патологічного процесу різного ступеня важкості.

Як показали отримані нами результати, при гострому експериментальному пародонтиті показники МСМ1 та МСМ2, які відображають, відповідно, вміст ланцюгових і ароматичних амінокислот у середньомолекулярних пептидах та продуктах їх розпаду, були підвищені уже з 1-ої доби після нанесення травми. Вміст МСМ1 в крові уражених щурів у 1,6 раза, а вміст МСМ2 – відповідно у 1,8 рази. Через 7 днів після моделювання патологічного процесу рівень МСМ зріс ще більше і перебував на цьому ж рівня до 14-ої доби. До 21-ої доби обидва показники знижувались порівняно з попереднім терміном спостереження, однак достовірно перевищували рівень тварин без змодельованої патології.

Таким чином, під впливом травми відмічалось збільшення концентрації в крові як МСМ1, так і МСМ2. Причому, зростання МСМ було значнішим для пулу МСМ1, що вказує на виражене збільшення ланцюгових амінокислот у складі фракції середніх молекул.

Оскільки МСМ – маркери ендотоксикозу, то різке зростання їх вмісту вказує на пік розвитку та генералізації синдрому ендогенної інтоксикації. Інтоксикаційний синдром спричинений травмою супроводжується і спричиняє підвищений розпад тканин, посилення катаболічних процесів,

внаслідок накопичення надлишкової кількості біологічно активних речовин, деформованих білкових метаболітів та інших токсичних речовин ендогенного походження.

В ході експерименту встановлено, що вміст МСМ1 і МСМ2 в сироватці крові щурів зменшувався при проведенні корекції. В групі тварин, яким проведена корекція МСК, виявлено зміни щодо вмісту обох фракцій МСМ.

Як видно з результатів проведених нами досліджень, одночасно із збільшенням рівня МСМ, зростав і загальний токсичний вплив на мембрани еритроцитів, котрий проявлявся у достовірному підвищенні ЕП у всі терміни спостереження.

На першу добу ЕП у групі тварин, яким моделювали гострий пародонтит, зростав в 1,4 рази відносно тварин без змодельованої патології. На 7-му добу спостереження цей показник зростав ще більше – в 1,5 рази від норми, знижуючись у подальші терміни спостереження.

Корекція із використанням МСК дозволила зменшити токсичний вплив на еритроцитарні мембрани, особливо у більш пізні терміни спостереження. На 1-шу добу після моделювання гострого пародонтиту уведення МКС не мало виразного ефекту – показник перебував майже на рівні аналогічного показника тварин без корекції. На 7-му добу тенденція не змінилась. До 14-ої доби нами зафіксовано достовірне зменшення ЕП як відносно здорових тварин, так і тих, яким моделювали гострий пародонтит, однак корекцію не проводили. До 21-ої доби ЕП достовірно не відрізнявся від рівня здорових тварин.

Ще одним показником, що характеризує рівень ендотоксемії є рівень ЦК. У нашому дослідженні цей показник зростав у тварин, яким моделювали гострий пародонтит. Максимальне зростання зафіксоване на 14-ту добу.

Застосування МСК як засобу корекції спричинилося до зниження рівня ЦК. відносно тварин без змодельованої патології.

Порушення функціонування системи протеїнази/інгібітори протеїназ відіграють важливу роль у патогенезі багатьох патологічних станів [201-207, 218-229]. Реакції так званого лімітованого (обмеженого) протеолізу задіяні у процесі утворення активних форм ензимів з неактивних попередників, синтезі гормонів, структурних білків, ряду білків плазми крові, утворенні та інактивації біоактивних пептидів (кініни, нейропептиди), які є учасниками регуляції судинного тонуусу, процесів мікроциркуляції, функції мозку тощо [229, 230]. Широкий спектр фізіологічної дії протеїназ, їх висока активність щодо білкових субстратів спричиняють складність механізмів регуляції зазначених процесів в організмі [220]. Серед факторів, що визначають біологічну активність протеїназ можна назвати концентрацією ензиму і субстрату, рН, температуру. Проте, однією з найбільш важливих ланок контролю за протеолізом є наявність у крові та тканинах специфічних білків – інгібіторів протеолітичних ферментів, зокрема α_1 -інгібітора протеїназ, α_2 -макроглобуліну, антитромбіну III, α_2 -антиплазміну, α_1 -антихімотрипсину, які утворюють комплекси з протеїназами, знижуючи при цьому їх активність [230, 231].

За фізіологічних умов активність протеолітичних ферментів врівноважена з рівнем інгібіторів протеїназ. При наявності критичних станів відбувається порушення динамічної рівноваги між протеазами та їх інгібіторами. Зростання кількості та активності ферментів протеолізу тканинного походження зумовлює “протеазний вибух”, у зв’язку з чим гіперактивуються згортальна, фібринолітична, калікреїн-кінінова, ренін-ангіотензин-альдостеронова системи і комплемент. Вказані зміни створюють передумови до розвитку деструктивних та запальних змін не тільки в окремих органах, а й у цілому організмі. [204, 232].

При дії різних патогенних чинників відзначається суттєве зростання активності протеолітичних ферментів, та вони з фактора регуляції перетворюються на чинник пошкодження [203, 229]. Однією із причин, котрі

спричиняють цю трансформацію, є зниження активності ендогенних інгібіторів протеїназ та підвищення проникності лізосомальних мембран [233].

Проаналізувавши показники протеолітичної активності сироватки крові у щурів, котрим моделювали гострий пародонтит нами визначено, що упродовж усього експерименту вони були вищими, аніж у тварин, котрим патологічний процес не моделювали. Отож, лізис азоальбуміну на 1-шу добу після моделювання пародонтиту перевищував показник тварин без змодельованої патології в 1,5 рази. Аналогічні за спрямованістю зміни ми відзначили щодо лізису азоказеїну та азоколу. В свою чергу, показник лізису азоказеїну у вказаний термін спостереження був у 2,2, а лізис азоколу – у 2,1 рази вищим, на відміну від тварин без змодельованого патологічного процесу. В двох випадках різниця між значеннями показників була достовірною. На 7-му добу спостереження значення лізису азоальбуміну незначно знизився, проте перевищував рівень тварин без змодельованої патології. Значення ж лізису азоказеїну та азоколу зростали і на 7-му добу з моменту моделювання патологічного процесу. При цьому до 14-ої доби показники лізису азоальбуміну, азоказеїну та азоколу суттєво зменшувались, проте перевищували рівень тварин без змодельованої патології, що продовжувалось до 21-ої доби, однак і в цей період вони були вищими від норми.

Використання МСК зумовило зменшення активності протеаз сироватки крові. Так, лізис азоальбуміну на 1-шу добу з моменту моделювання пародонтиту у тварин даної групи перевищував показник тварин без змодельованої патології в 1,4 рази, проте був достовірно меншим, ніж у тварин, котрим моделювали пародонтит, але корекції не проводили. Аналогічну спрямованість мали також лізис азоказеїну та азоколу.

На 7-му добу спостереження активність протеолітичних ензимів зменшувалась відносно попереднього терміну спостереження, а також

стосовно аналогічних показників тварин, яким корекцію не проводили. Суттєве зниження протеолітичної активності ми спостерігали на 14-ту добу експерименту. До 21-ої доби активність протеолітичних процесів знаходилась на попередньому рівні окрім значення лізису азоказеїну, котрий був меншим, аніж на 14-ту добу спостереження.

Отже, використання МСК знижує активність процесів протеолізу на початкових етапах патологічного процесу, що може відігравати важливу роль для пришвидшення процесів регенерації тканин пародонта, пошкоджених в результаті моделювання патологічного процесу.

Вміст білкових інгібіторів плазми крові також зазнавав суттєвих змін. На першу добу спостереження встановлено достовірне зростання інгібіторного потенціалу крові тварин, котрим моделювали гострий пародонтит. Таким чином, концентрація α_2 -МГ, зросла в 1,7 рази від норми. Відносно α_1 -ІІІ, то його концентрація також збільшувалась в порівнянні з тваринами без змодельованої патології, проте значно менше. Виразне збільшення вмісту α_2 -МГ може бути спричинене його підвищеною продукцією паралельно з гіперпродукцією інших гострофазових білків у відповідь на дію пошкоджуючого фактора. Проте, зростання активності основних білкових інгібіторів можна вважати як неспецифічну захисну реакцію організму на посилений протеоліз та запуск фізіологічних процесів адаптації у відповідь на зростання протеолітичної активності крові. Менш виразне зростання інгібіторного потенціалу, поряд із значним зростанням протеолітичної активності, відобразилося на показнику індексу протеолізу – він зріс в 1,6 рази. На 7-му добу концентрації α_1 -ІІІ та α_2 -МГ суттєво знижувались, порівняно з попереднім терміном спостереження, однак перевищували рівень тварин без патології. Водночас, враховуючи зростання у даний період протеолітичної активності крові, був вищим від показника інтактних тварин. На 14-ту добу від моменту моделювання патологічного процесу кількість білкових інгібіторів у сироватці крові значно зменшилася,

що вказує на виснаження антипротеазних резервів крові. Зазначене є одним з чинників, які унеможлиблюють нормалізацію активності процесів протеолізу на фоні високої активності протеолітичних ензимів, про що свідчить зростання ІІ у 1,7 рази. До 21-ої доби спостереження показники інгібіторів протеаз дещо зростали і суттєво не відрізнялись від показників тварин без змодельованої патології, однак нормалізація активності антипротеаз не корелювала з активністю протеолітичних ензимів, тому індекс протеолізу все ж таки був вищим, у порівнянні з показниками у нормі.

Використання коригуючого фактора супроводжувалось значним зсувом співвідношення протеази/інгібітори протеаз у сторону переважання процесів інгібування протеолізу. На 1-шу добу концентрації α_1 -ІІ та α_2 -МГ були достовірно вищими, ніж у здорових тварин, однак меншими від аналогічних показників тварин без корекції. , на тлі зростання протеолітичних процесів у цей термін спостереження, все ж перевищував показник тварин без змодельованої патології, однак був достовірно нижчим порівняно з тваринами без корекції. На 7-му добу ми відзначили нормалізацію інгібіторної активності сироватки крові. Концентрація α_1 -ІІ та α_2 -МГ перевищувала показники тварин без змодельованої патології, а був значно меншим, ніж у групі тварин без корекції. До 14-тої доби експерименту показники антипротеазної системи крові практично нормалізувались, значно не відрізняючись від аналогічних показників тварин без корекції. На 21-шу добу спостереження концентрації α_1 -ІІ та α_2 -МГ дещо перевищували рівень здорових тварин, при цьому також суттєво знизився як відносно інтактних тварин, так і тварин, яким корекцію не проводили.

Однак, при застосуванні м'зових стовбурових клітин щура, місцями навіть до завершення спостереження ще зберігалися явища акантозу, а також склеротичні зміни у підслизовій сполучній тканині.

Водночас слід відмітити, якщо описані процеси ремоделювання тканин пародонту мали місце при застосуванні обох методів корекції, то результати

наших досліджень також свідчать про те, що застосування мезенхімальних стовбурових клітин людини було дещо більш ефективним у порівнянні із застосуванням м'зових стовбурових клітин щура. При цьому більш повно відновлювалася морфологічна організація структурних компонентів пародонту. За рахунок гіперплазії слизова наповзала на зуб нерідко повністю редукуючи пародонтальні кишені.

Отже, при експериментальному відтворенні гострого пародонтиту мають місце деструктивні зміни епітелію та сполучнотканинної строми, порушення кровоплину, спостерігається запальна реакція в тканині ясен.

Застосування методів корекції з використанням мезенхімальних стовбурових клітин людини, а також м'зових стовбурових клітин щура мало позитивний вплив на перебіг модельованого патологічного процесу: поступово редукувалися ті морфологічні зміни, які були характерними для пародонтиту, відновлювалося нормальне кровопостачання тканин, поступово спадав набряк тканин, зменшувалися і поступово зникали поля поліморфноклітинної інфільтрації. За рахунок остеобластів відновлювалася структура кістки альвеолярного відростка щелепи. Зменшувалися розміри пародонтальної кишені, а у ряді випадків вони зовсім закривалися в результаті повної адгезії слизової оболонки ясен до зуба, яка піднімалася по його поверхні догори.

ВИСНОВКИ

У дисертації теоретично узагальнено і по-новому вирішено наукове завдання, що знайшло своє відображення у встановленні ефективності застосування стовбурових клітин для корекції патологічних порушень, що виникають за моделювання гострого генералізованого пародонтиту. Це наукове завдання вирішене шляхом експериментального вивчення інтенсивності процесів ліпідної пероксидації уражених тварин, стану антиоксидантної системи, вираженості ендогенної інтоксикації, стану імунного захисту, особливостей системи протеїнази/інгібітори протеїназ.

1. Моделювання запального процесу у пародонті супроводжувався розвитком оксидативного стресу, що проявляється активацією процесів ліпідної пероксидації на ранніх етапах патологічного процесу, що характеризується збільшенням інтенсивності продукування початкових (активні форми кисню), зростанням концентрації проміжних (гідропероксиди лідів, малоновий альдегід) та кінцевих (основи Шиффа) продуктів ліпопероксидації, а також підвищенням інтенсивності окиснювальної модифікації білків. Застосування МСК як коригуючого засобу спричинилося до зниження показників ліпідної та білкової пероксидації відносно тварин без змодельованої патології, особливо у ранні терміни спостереження, і достовірно відрізнялись від аналогічних показників тварин з пародонтитом без корекції.

2. За умов гострого експериментального пародонтиту спостерігається фазова динаміка змін показників ферментної (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза) та неферментної (церулоплазмін, відновлений глутатіон) ланок системи антиоксидного захисту – зростання у ранні терміни патологічного процесу із подальшим зниженням у подальші терміни патологічного процесу. Уведення МСК мало значний вплив на ці показники. Зокрема, на 1-шу добу зростання було менш виразним, а у

подальші терміни показники були достовірно вищими, ніж у тварин без корекції і до 21-ої доби наближались до рівня тварин без змодельованої патології.

3. Запальний процес, що перебігає у пародонті щурів за умов моделювання гострого пародонтиту, впливає на функціональний стан нейтрофілів і активність у них оксигензалежних процесів – зростають показники сНСТ-тесту та іНСТ-тесту на 85,8 та 107,9 % на 1-шу добу спостереження із подальшим зниженням до 21-ої доби. Збільшення показника резерву та коефіцієнта метаболічної активації на ранньому етапі патологічного процесу відображає зростання функціональних резервів нейтрофілів, характерне для запалення. Застосування МСК впливає на функціональний стан нейтрофілів і активність у них оксигензалежних процесів – вони знижуються відносно показників тварин, яким корекцію не проводили. Зниження метаболічних і оксидативних процесів в осередку ушкодження за умов застосування МСК супроводжується зниженням активності оксидативних процесів, що зумовлює зниження інтенсивності пошкодження тканин у щурів з гострим пародонтитом.

4. Перебіг гострого пародонтиту супроводжується дисбалансом Т-клітинної ланки імунної системи з порушенням співвідношення CD^{4+}/CD^{8+} клітин і зміною імунорегуляторного індекса – зростанням на 1-шу добу до 106,5 % і подальшим зниженням до 21-шої доби. На початкових етапах патологічного процесу спостерігається активація гуморальної ланки імунної системи з наступним зниженням секреції IgG, IgM та IgA. Застосування МСК суттєво вирівнює спричинений патологічним процесом дисбаланс імунної системи, сприяючи нормалізації імунорегуляторного індексу та основних класів імуноглобулінів.

5. При експериментальному гострому пародонтиті спостерігається зростання на 1-шу добу концентрації прозапальних цитокінів (IL-1 β у 4,2 рази, TNF- α – у 2,9 рази, IL-6 – у 2,8 рази порівняно з тваринами, яким

моделювання пародонтиту не проводилось, з подальшим зниженням до 21-ої доби. Концентрація протизапального ІЛ-10 вірогідно зростала на 1-шу добу в 1,9 рази, з подальшим зниженням до 21-ої доби. Застосування МСК супроводжувалось зменшенням концентрації прозапальних цитокінів сироватки крові. Так, концентрація ІЛ1- β на 1-шу добу була меншою на 29,3 %, концентрація TNF- α – на 26,0 %, ІЛ6 – на 15 % від показників тварин без корекції. Більш виразне зниження прозапальних цитокінів ми встановили на 21-шу добу експерименту. У цей термін спостереження концентрації ІЛ 1- β , TNF- α та ІЛ-6 перевищували рівень тварин без змодельованої патології в 1,7 рази, 1,5 та 1,3 рази. При цьому концентрації TNF- α та ІЛ-6 були відповідно на 25,5 % та 4,9 % меншим, ніж у тварин без корекції. Спостерігалось також підвищенням концентрації ІЛ-10 стосовно тварин без змодельованої патології та тварин з пародонтитом, яким корекцію не проводили.

6. Патологічний процес у тканинах пародонта супроводжується достовірним зростанням МСМ уже через 24 год від моменту нанесення травми. Так, вміст МСМ1 зріс у 1,6 рази, МСМ2 – у 8,8 рази відносно інтактних тварин. Інтоксикаційний синдром, спричинений пародонтитом, спричиняє підвищений розпад тканин, посилення катаболічних процесів, внаслідок накопичення надлишкової кількості біологічно активних речовин, на що вказують виражені зміни еритроцитарного індекса інтоксикації. Застосування МСК супроводжується зниженням ступеня ендогенної інтоксикації та зменшенням впливу токсичних продуктів на мембранні структури.

7. Моделювання гострого пародонтиту характеризується інтенсивним зростанням протеолітичної активності крові на тлі менш виразного зростання антипротеазної активності (лізис азоальбуміну на першу добу зростав на 50,6 %, показник лізису азоказеїну – у 2,2 рази, лізис азоколу – у 2,1 рази, концентрація α 2-МГ, зросла на 74,9 %, α 1-ІІІ – на 9,1 % порівняно з

тваринами без змодельованої патології на 1-шу добу експерименту. Несуттєве зростання інгібіторного потенціалу, поряд із значним зростанням протеолітичної активності, відобразилося на значенні індексу протеолізу – зростання на 66,1 %. Застосування МСК зменшує дисбаланс системи протеази/антипротеази, що супроводжується зниженням індексу протеолізу особливо у більш пізні терміни після нанесення травми.

8. Патоморфологічними дослідженнями встановлено, що при експериментальному відтворенні гострого пародонтиту мають місце деструктивні зміни епітелію та сполучнотканинної строми, порушення кровоплину, спостерігається запальна реакція в тканині ясен. Застосування методів корекції з використанням мезенхімальних стовбурових клітин людини, а також м'зових стовбурових клітин щура мало позитивний вплив на перебіг модельованого патологічного процесу: поступово редукувалися ті морфологічні зміни, які були характерними для пародонтиту, відновлювалося нормальне кровопостачання тканин, поступово спадав набряк тканин, зменшувалися і поступово зникали поля поліморфноклітинної інфільтрації. За рахунок остеобластів відновлювалася структура кістки альвеолярного відростка щелепи. Зменшувалися розміри пародонтальної кишені, а у ряді випадків вони зовсім закривалися в результаті повної адгезії слизової оболонки ясен до зуба, яка піднімалася по його поверхні догори.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Заболотний Т. Д., Борисенко А. В., Пупін Т. І. Запальні захворювання пародонта. Львів : ГалДент, 2013. 205 с.
2. Генералізований пародонтит / [Т. Д. Заболотний, А. В. Борисенко, А. В. Марков та ін.]. Львів : Гал Дент, 2011. 240 с.
3. Дерейко Л. В., Плєшакова В. В. Взаємозв'язок між пародонтитом і загальним станом здоров'я. *Імплантологія. Пародонтологія. Остеологія*. 2010. № 2. С. 76–84.
4. Годована О. І. Захворювання пародонту (гінгівіт, пародонти, пародонтоз). Львів ; Тернопіль : Джура, 2009. 200 с.
5. Астахова В. С., Панченко Л. М., Романенко О. Н. Определение регенераторного потенциала костной ткани пародонта. *Вісник стоматології*. 2001. № 4. С. 75–79.
6. Грудянов А. И., Сысоева В. Ю., Терновой Ю. В. Стволовые клетки и возможности их применения в пародонтологии = Stem cells and possibilities of their application in parodontology. *Стоматология*. 2012. Т. 91, № 1. С. 71–75.
7. Золотухина Е. Л. Стволовые клетки и перспективы их применения в стоматологии и челюстнолицевой хирургии. *Молодой ученый*. 2014. Т. 9, № 6. С. 145–147.
8. Шинування та безпосереднє протезування при захворюваннях пародонта : навчальний посібник / М. Н. Воляк, З. Р. Ожоган, О. І. Бульбук та ін. Івано-Франківськ : Видавництво ІФНМУ, 2010. 104 с.
9. Белоусов Н. Н., Буланов В. И. Проблемы обследования и диагностики при заболеваниях пародонта. *Стоматология*. 2004. № 2. С. 19–21.
10. Данилевский Н. Ф., Борисенко А.В. Заболевания пародонта. К. : Здоров'я, 2008. 464 с.

11. Мельничук Г.М. Генетичні аспекти патогенезу захворювань тканин пародонта. *Гал. лікар. вісник*. 2002. Т. 9, № 2. С. 155–159.
12. Periodontal disease as a risk factor for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw / V. Thumbigere-Math, B. S. Michalowicz, J. S. Hodges et al. *J. Periodontol.* 2014. Vol. 85, № 2. P. 226–233.
13. Алгоритм виникнення й розвитку генералізованого пародонтиту та пародонтозу: схема комплексного лікування генералізованого пародонтиту / Г. М. Мельничук, А. М. Політун, Л. Є. Ковальчук та ін. *Современная стоматология*. 2013. № 1. С. 35–40.
14. Вейсгейм Л. Д., Люмкис Е. В. Состояние вопроса о влиянии соматических заболеваний на клинику и лечение пародонтитов. *Новости в стоматологии*. 2004. № 6. С. 75–77.
15. Вплив порушень нервової системи на розвиток захворювань пародонта. Актуальність та історія розвитку проблеми / З. М. Гонта, О. М. Немеш, І. В. Шилівський та ін. *Імплантологія. Пародонтологія. Остеологія*. 2012. № 3 (27). С. 75–78.
16. Michel H. О проблемах возникновения пародонтита. Факторы риска, критерии оценки и необходимость привлечения специалистов в других областях медицины. *Нов. в стоматол.* 2002. № 8. С. 6–9.
17. Гонта З. М. Поширеність захворювань пародонта у хворих на шизофренію. *Практ. мед.* 2009. Т. 15, № 5. С. 16–19.
18. Заболотний Т. Д., Гонта З. М., Слаба О. М. Вплив психосоматичних порушень на розвиток захворювань пародонта. *Імплантологія. Пародонтологія. Остеологія*. 2007. № 2 (6). С. 69–71.
19. Заболотний Т. Д., Шилівський І. В., Немеш О. М. Поширеність захворювань пародонта в пацієнтів з сечокам'яною хворобою. *Імплантологія. Пародонтологія. Остеологія*. 2010. № 2. С. 81–85.
20. Зв'язок захворювань пародонта з загальносоматичною патологією / О. М. Немеш, З. М. Гонта, І. В. Шилівський, А. П. Скалат.

- Нов. стоматол.* 2006. № 2 (47). С. 34–37.
21. Мазур І. П. Клініко-патогенетичні особливості перебігу захворювань пародонта при порушенні системного кісткового метаболізму та їх корекція : автореф. дис. на здобуття наук ступеня д-ра мед. наук : 14.01.22. Одеса, 2006. 32 с.
 22. Шилівський І. В., Немеш О. М., Васьків Н. Б. Особливості клінічного перебігу генералізованого пародонтиту у хворих на сечокам'яну хворобу. *Практ. мед.* 2006. № 2 (12). С. 106–108.
 23. Бактериологический спектр содержимого пародонтальных карманов у больных генерализованным пародонтитом / В. П. Ширококов, А. В. Борисенко, Л. И. Тывоненко и др. *Соврем. стоматол.* 2003. № 2. С. 29–32.
 24. Білоклицька Г. Ф., Тілігузова Н. А., Перова Г. І. Значення локальних та системних порушень антиоксидантного гомеостазу в розвитку дистрофічно–запальних захворювань пародонта. *Матеріали ІІ (ІХ) з'їзду Асоціації стоматологів України.* К., 2004. С. 195–196.
 25. Булгакова А. И. Влияние местного иммунитета десны и ротовой полости на течение хронического пародонтита. *Нов. в стоматол.* 2002. № 10. С. 90–94.
 26. Грудянов А. И. Иммунологические показатели крови при быстро прогрессирующем пародонтите. *Стоматология.* 2000. № 3. С. 15–17.
 27. Дмитриева Л. А., Крайнова А. Г. Современные представления о роли микрофлоры в патогенезе заболеваний пародонта. *Пародонтология.* 2004. № 1. С. 8–15.
 28. Шилівський І. В. Стан процесів перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи у хворих генералізованим пародонтитом на фоні сечокам'яної хвороби. *Практ. мед.* 2012. № 6 (XVIII). С. 192–198.

29. Грохольский А. П., Кодола Н. А., Центило Т. Д. Назубные отложения: их влияние на зубы, околозубные ткани и организм. К. : Здоров'я, 2000. 160 с.
30. Данилевский Н. Ф., Борисенко А. В. Заболевания пародонта. К. : Здоров'я, 2000. 464 с.
31. Вольф Г.Ф., Ратейцхак Е. М. Пародонтология ; Пер. с нем. ; под. ред. проф. Г. М. Барера. М. : МЕДпресс-информ, 2008. 548 с.
32. Иванов В. С. Заболевания пародонта. М. : МИА, 2001. 300 с.
33. Бактериологический спектр содержимого пародонтальных карманов у больных генерализованным пародонтитом / В. П. Ширококов, А. В. Борисенко, Л. И. Тывоненко и др. *Соврем. стоматол.* 2003. № 2. С. 29–32.
34. Гонта З. М., Корнійчук О. П., Гураль А. П. Мікробіоценоз порожнини рота у хворих на шизофренію. *Практ. мед.* 2008. Т. 14, № 4. С. 52–55.
35. Данилевський М. Ф., Борисенко А. В. Вплив мікрофлори на перебіг та лікування генералізованого пародонтиту. *Матеріали II (IX) з'їзду Асоціації стоматологів України.* К., 2004. С. 214–216.
36. Заболотний Т. Д., Залізняк М. С. Мікробіоценоз пародонтальних кишень у хворих генералізованим пародонтитом з супутнім остеоартрозом. *Вісн. стоматол.* 2011. № 3. С. 37–40.
37. Корнійчук О. П., Гонта З. М., Ширіханова І. Ю. Мікробіологічний спектр вмісту пародонтальних кишень у хворих на шизофренію. *Нов. стоматол.* 2011. № 3 (68). С. 86–88.
38. Lovegrove J. M. Dental plaque revisited: bacteria associated with periodontal disease. *J. Periodontol.* 2004. Vol. 87. P. 7–21.
39. Синглетно-кислородная терапия / Под ред. И. З. Самосюк, Л. И. Фисенко. К. : НИИ «Мединтех», 2007. 228 с.

40. Ісаєва Н. С. Ефективність схеми корекції порушення орального мікробіоценозу в дітей. *Современная стоматология*. 2013. № 3. С. 64–66.
41. Ковач І. В., Крупей В. Я. Мікробіоценоз порожнини рота в динаміці лікування карієсу зубіві хронічного катарального гінгівіту в дітей із захворюваннями шлунково-кишкового тракту. *Современная стоматология*. 2014. № 3. С. 50–53.
42. Кулигіна В. М., Побережна Г. М. Стан мікробіоценозу ротової порожнини у пацієнтів із стоматологічними захворюваннями, поєднаними з синдромом мальабсорбції. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2012. № 19. С. 56–59.
43. Ліснічук М. В. Вплив бактеріотерапії на мікробіоценоз ясенної борозни у хворих на запальні хвороби пародонту. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2014. № 3. С. 67–71.
44. Ліснічук М. В. Застосування про- та синбіотиків у лікуванні хворих на хронічний катаральний гінгівіт : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : 14.01.22 / Львів. нац. мед. ун-т. ім. Данила Галицького. Львів, 2010. 20 с.
45. Кулаков А. А., Зорина О. А., Борискина О. А. Роль защитных факторов организма в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта. *Стоматология*. 2010. № 6. С. 72–77.
46. Мельников О. Ф., Заболотная Д. Д. Местный иммунитет и концепция диагностики иммунной недостаточности на основе определения уровня защитных белков в секретах. *Сучасні медичні технології*. 2009. № 2. С. 22–24.
47. Веремеєнко К. М., Кизим О. Й. Біохімія ротового секрету та його дослідження в клініці. *Лабораторна діагностика*. 2005. № 2. С. 9–14.
48. Матвійків Т. І., Герелюк В. І. Клінічний стан тканин пародонта у хворих на хронічний генералізований пародонти на тлі системної

- антибіотикотерапії у зв'язку з супутньою виразковою хворобою шлунку. *Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2013. Т. 13, № 3 (43). С. 54–58.
49. Фагоцитарная защита пародонта и способы ее активации / Ш. Л. Шиманский, В. Н. Чиликин, И. Ю. Малышев и др. *Стоматология*. 2013. Т. 92, № 5. С. 64–69.
 50. Киселева Н. М., Кузьменко Л. Г., Нкане Нкоза М. М. Стресс и лимфоциты. *Педиатрия*. 2012. Т. 91, № 1. С. 137–143.
 51. Козовий Р. В. Перевірка гіпотези про наявність зв'язку між показниками функціонального стану геному епітеліоцитів слизової оболонки ротової порожнини, лімфоцитів та нейтрофільних гранулоцитів крові у довгожителів за допомогою кореляційного аналізу. *Галицький лікарський вісник*. 2013. Т. 20, № 4. С. 29–31 .
 52. Сергеева И. Е. Гуморальные факторы неспецифического иммунитета у больных генерализованным пародонтитом. *Вісник стоматології*. 2011. № 4. С. 108–109.
 53. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология: пособие для студентов, врачей интернов, иммунологов, аллергологов, врачей лечебного профиля всех специальностей. 4-е изд., доп. К., 2010. 552 с.
 54. Новые возможности коррекции иммунных нарушений при заболеваниях пародонтаи СОПР / А. В. Борисенко, Ю. Г. Коленко, И. Г. Дикова и др. *Современная стоматология*. 2011. № 1. С. 21–22.
 55. Association of dental caries and salivarys IgA with tobaccosmoking / G. Hagh, F. Zakavi, S. Ansarifar et al. *Australian Dent. J.* 2013. Vol. 58, № 2. P. 219–223.
 56. Oral biomarkers in the diagnosis and progression of periodontal diseases / A. Zia, S. Khan, A. Bey et al. *Biology and Medicine (BLM)*. 2011. Vol. 3, № 2. P. 45–52.
 57. Flagellin Enhances Saliva IgA Response and Protection of Anti-

- cariesDNA / W. Shi, Y. H. Li, J. Y. Yang et al. *J. Dent. Res.* 2012. Vol. 91, № 3. P. 249–254.
58. Listgarten M. A., Loomer P. M. Microbial identification in the Management of Periodontal Diseases. A Systematic Review. *Ann. Periodontol.* 2003. Vol. 8, № 1. P. 182–192.
59. Скидан К. В. Обґрунтування застосування пробіотиків для профілактики загострення генералізованого пародонтиту : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : 14.01.22 / ДУ «Інститут стоматології АМНУ України». Одеса, 2007. 20 с.
60. Грудянов А. И., Дмитриева Н. А., Фоменко Е. В. Применение пробиотиков в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта. М. : ООО Медицинское информационное агенство, 2006. 112 с.
61. Komatsu Y., Tai H., Galicia J. C. Interleukin-6 (IL-6)–373 A9T11 allele is associated with reduced susceptibility to chronic periodontitis in Japanese subjects and decreased serum IL6 level. *Tissue Antigens.* 2005. Vol. 65. P. 110–114.
62. Kornman K. S. Genetic variation of cytokine for adult periodotitis. *Ann. Periodontal.* 1998. Vol. 3, № 1. P. 327–338.
63. Levels of interleukin-17 in gingival crevicular fluid and in supernatants of cellular cultures of gingival tissue from patients with chronic periodontitis / R. Vernal, N. Dutzan, A. Chaparro et al. *Journal of Clinical Periodontology.* 2005. Vol. 32, № 4. P. 383–389.
64. Liu Y., Li J., Chang L. Influence of periodontal therapy on serum interleukin–6 and carotid metalloproteinases in animals with chronic periodontitis associated with atherosclerosis. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2014. Vol. 49, № 3. P. 155–160.

65. Makrides M., Ochoa J. B., Szajewska H. The Importance of Immunonutrition. *Nestlé Nutr. Inst. Workshop Ser. Nestec Ltd. Vevey/S.* 2013. Vol. 77. P. 1–15.
66. Robati M., Ranjbari A., Ghafourian Boroujerdnia M. Detection of IL-4, IL-6 and IL-12 serum levels in generalized aggressive periodontitis. *Iran. J. Immunol.* 2011. Vol. 8. № 3. P. 170–175.
67. The interleukin-10 promoter haplotype ATA is a putative risk factor for aggressive periodontitis / S. Reichert, H. K. Machulla, J. Klapproth et al. *J. Periodontal Res.* 2008. Vol. 43, № 1. P. 40–47.
68. Мащенко И. С., Макаревич А. Ю. Научно-практическое обоснование применения лаферона в комплексном лечении генерализованного пародонтита. *Український стоматологічний альманах.* 2003. № 2 С. 58–60.
69. Мащенко І. С., Гудар'ян О. О. Порівняльна оцінка параметрів клітинного імунітету в залежності від мікробіологічної особливості різних типів клінічного перебігу генералізованого пародонтиту. *Вісник стоматології.* 2006. № 4. С. 32–36.
70. Gemmell E., Seymour G. J. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontology 2000.* 2004. Vol. 35. P. 21–41.
71. Мащенко И. С., Гударьян А. А. Цитокиновый статус больных генерализованным пародонтитом и его связь с состоянием процессов метаболизма костной ткани. *Український стоматологічний альманах.* 2005. № 2. С. 5–8.
72. Сукманский О. И. Цитокины – новая система биорегуляторов. *Вісник стоматології.* 2005. № 3. С. 69–74.
73. Delaleu N., Bickel M. Interleukin-1 β and interleukin-18: regulation and activity in local inflammation. *Periodontology 2000.* 2004. Vol. 35. P. 42–52.

74. Мащенко И. С., Гударьян А. А. Механизмы формирования различной активности остеопороза в костных структурах пародонта больных генерализованным пародонтитом. *Вісник стоматології*. 2005. № 2. С. 41–44.
75. Мащенко И. С., Гударьян А. А. Содержание ИЛ-1 β у больных генерализованным пародонтитом, страдающих сахарным диабетом II типа. *Современная стоматология*. 2005. № 1. С. 61–63.
76. Menard J., Colombet I., Chatellier G. Cardiovascular managements of the elderly. *Eur. Heart J.* 2000. Vol. 2. P. 11–13.
77. Мащенко И. С., Хмара А. Ю. Клинико-иммунологическое обоснование этапной иммунокорректирующей терапии в комплексном лечении обострившегося генерализованного пародонтита. *Вісник стоматології*. 2008. № 3. С. 23–28.
78. Okada H., Murakami H. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 1998. Vol. 9, № 3. P. 248–266.
79. Seymour G. J., Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontol. Scand.* 2001. Vol. 59. P. 167–173.
80. Мащенко И. С., Чернова Ю. В., Чарун Ю. И. Клинические, биохимические и иммунологические аспекты возникновения начальной степени генерализованного пародонтита. *Вісник стоматології*. 2001. № 3. С. 8–10.
81. Мащенко И. С., Самойленко И. В. Новые аспекты патогенеза генерализованного пародонтита. *Вісник стоматології*. 2002. № 1. С. 12–15.
82. Мельничук Г.М. Генералізований пародонтит і пародонтоз: маркери спадкової схильності, патогенетичні механізми метаболічних порушень та їх комплексна корекція : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук : 14.01.21. Одеса, 2008. 33 с.

83. Машченко И. С. Обмен цитокинов у больных генерализованным пародонтитом. *Современная стоматология*. 2004. № 1. С. 73–75.
84. Local production of cytokines and perspectives of immunotherapy in patients with parodontitis [XI International Congress of Immunology, Stockholm, 22-27 July, 2001] / T. Ivanushko, L. Gancovskya, V. Arion et al. *Scand. J. Immunol.* 2001. Vol. 54, № 1. P. 103.
85. Paul A. T., Gohil V. M., Bhutan K. K. Modulating TNF- α signaling with natural products. *Drug Dis. Today*. 2006. Vol. 11, № 15/16. P. 725–732.
86. Chen Li-Li, Yan Jie. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide activated bone resorption of osteoclasts by inducing IL-1, TNF and PGE.. *Acta Pharmacol. Sin.* 2001. Vol. 22, № 7. P. 614–618.
87. Демкович А. Є., Бандрівська О. О., Беденюк О. А. Зміни цитокінового статусу в механізмах розвитку і перебігу запальних процесів пародонта. *Інноваційні технології в стоматології* : матер. VIII наук.-практ. конф., 23 вересня 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 20–21.
88. Демкович А. Є., Бондаренко Ю. І., Гасюк П. А. Гуморальна ланка імунного захисту організму при експериментальному бактеріально-імунному пародонтиті. *Вістник проблем біології і медицини*. 2018. № 1. С. 351–355.
89. Демкович А. Є., Бондаренко Ю. І., Якимчук М. М. Зміни клітинного імунного захисту організму в процесі хронізації експериментального бактеріально-імунного пародонтиту. *Український стоматологічний альманах*. 2018. № 1. С. 5–8.
90. Иммуноцитохимическое исследование интерлейкина 1β в эпителиоцитах десен при хроническом генерализованном пародонтите / А. И. Парфёнов, Я. Я. Мазурова, Ю. А. Грухин и др. *Цитокины и воспаление*. 2012. Т. 11, № 1. С. 101–104.

91. Evidence of the presence of T helper type 17 cells in chronic lesions of human periodontal disease / C. R. Cardoso, G. P. Garlet, G. E. Crippa et al. *Oral Microbiology and Immunology*. 2009. Vol. 24, № 1. P. 1–6.
92. Gingival crevicular fluid levels of interleukin-1b and glycemic control inpatients with chronic periodontitis and type 2 diabetes / S. P. Engebretson, J. Hey-Hadavi, F. J. Ehrhardt et al. *J. Periodontol.* 2004. № 75. P. 1203–1208.
93. Демкович А. Є. Роль клітинного імунного захисту організму на ранньому етапі розвитку експериментального бактеріально-імунного пародонтиту. *Art of Medicine*. 2018. № 1 (5). С. 54–58.
94. Цитокины и оксид азота при бронхиальной астме / Ф. И. Петровский и др. *Бюллетень сибирской медицины*. 2002. № 1. С. 70–74.
95. Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *Journal of Periodontology*. 2008. Vol. 79, № 8. P. 1585–1591.
96. Активні форми кисню та їх роль у метаболізмі клітин / М. І. Колісник, Г. В. Колісник, Є. Нідзюлка та ін. *Біологія тварин*. 2009. № 11. С. 59–70.
97. Лембрик І. С. Характеристика перекисного окиснення білків та ліпідів у дітей з хронічною патологією підшлункової залози. *Здоровье женщины*. 2010. № 1 (17). С. 6–11.
98. Окисна модифікація білків і перекисне окислення ліпідів при ГКІбактерійної та ротавірусно-бактерійної етіології / Т. М. Одінець, І. З. Карімов, Д. К. Шмойлов та ін. *Таврический медико-биологический вестник*. 2012. Т. 15, № 2. С. 170–173.
99. Сучасний погляд на механізми виникнення окисного стресу у патогенезі *Helicobacter pylori*-асоційованих хвороб гастродуоденальної зони / О. П. Єлісеєва, Х. О. Семен, А. П. Черкас та ін. *Современная стоматология*. 2013. № 3. С. 22–25.
100. Antioxidative status of saliva before and after non-surgical periodontal

- treatment / N. Novaković, S. Čakić, T. Todorović et al. *Int. Endod. J.* 2013. Vol. 141, № 3–4. P.163–168.
101. Chappel D., Sculley V., Danglely S. C. Salivary antioxidants and periodontal disease status. *Am. J. Clin. Nutr.* 2007. № Vol. 86. P. 180–188.
102. Circu M. L., Aw T. Y. Redoxbiology of the intestine. *Free Radic. Res.* 2011. Vol. 45, № 11–12. P. 1245–1266.
103. Effects of obesity on gingiva oxidative stress in a rat model / T. Tomofuji, T. Yamamoto, N. Tamaki et al. *J. Periodontol.* 2009. Vol. 80, № 8. P. 1324–1329.
104. О роли активации свободо радикального окисления в структурной и функциональной дезорганизации биосистем в условиях патологии / Н. П. Чеснокова, В. В. Моррисон, Е. В. Понукалина и др. *Фундаментальные исследования.* 2009. № 5. С. 122–130.
105. Characterization of the antioxidant profile of human saliva in peri-implant health and disease /S. Liskmann, T. Vihalemm, O. Salum et al. *Clin. Oral. Implants Res.* 2007. Vol. 18, № 1. P. 27–33.
106. Силенко Ю. І., Ступницький Р. М. Роль вільнорадикальних, гемокоагулюючих та імунних механізмів у патогенезі генералізованого пародонтиту. *Український стоматологічний альманах.* 2011. № 1. С. 79–83.
107. Стан пероксидного окислення ліпідів та антиоксидантної забезпеченості організму хворих на генералізований пародонтит / Г. М. Мельничук, В. Ю. Катеринюк, А. С. Мельничук та ін. *Вісник стоматології.* 2007. № 4. С. 141–142.
108. Юрженко А. В. Біохімічні зміни в тканинах пародонта та ротовій рідині за умов генералізованого пародонтиту та лікування антиоксидантними препаратами : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : 14.01.32 / Нац. мед. ун-т ім. О.О. Богомольця. К., 2009. 20 с.

109. Iannitti T., Rottigni V., Palmieri B. Role of free radicals and antioxidant defences in oral cavity-related pathologies. *J. Oral Pathol. Med.* 2012. Vol. 41, № 9. P. 649–661.
110. Chakravarti B., Chakravarti D. N. Oxidative modification of proteins: age-related changes. *Gerontology.* 2007. Vol. 53, № 3. P. 128–139.
111. Jones D. P. Redefining oxidative stress. *Antioxid. Redox Signal.* 2006. Vol. 8, № 9–10. P. 1865–1879.
112. Poppek D., Grune T. Proteasomal Defense of Oxidative Protein Modifications. *Antioxid. Redox. Sign.* 2006. Vol. 8, № 1–2. P. 173–184.
113. Карімов І. З. Окисна модифікація білків і перекисне окислення ліпідів у розвитку метаболічної інтоксикації при патології. *Лабораторна діагностика.* 2005. № 1. С. 7–19.
114. Гриб В. А., Ерстенюк А. М. Окиснювальна модифікація білків при діабетичній дистальній симетричній поліневропатії. *Архів клінічної медицини.* 2009. № 1 (15). С. 40–42.
115. Показники окисної модифікації білків у конденсаті видихуваного повітря під час різних патологічних станів у школярів / О. К. Колоскова, Т. М. Воротняк, В. В. Білоус та ін. *Галицький лікарський вісник.* 2008. Т. 15, № 3. С. 46–49.
116. Probiotics in periodontal health and disease / A. Chatterjee, H. Bhattacharya, A. Kandwal et al. *J. Indian Soc. Periodontol.* 2011. Vol. 15, № 1. P. 23–28.
117. Stadtman E. R., Levine R. L. Freeradical-mediated oxidation of free aminoacids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids.* 2003. Vol. 25, № 3–4. P. 207–218.
118. Stadtman E. R. Protein oxidation and aging. *Free Radic. Res.* 2006. Vol. 40, № 12. P. 1250–1258.
119. Мельничук А. С. Розробка раціональних методів підготовки та протезування у комплексному лікуванні хворих на хронічний

- генералізований пародонтит : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : 14.01.22 / Ів.-Франк. нац. мед. ун-т. Івано-Франківськ, 2013. 20 с.
120. Микробиологические и нейроэндокринные аспекты патогенетического лечения пародонтита / И. С. Мащенко, К. В. Скидан, А. П. Левицкий и др. *Вісник стоматології*. 2007. № 4. С. 140–141.
 121. Сербіненко Є. В. Клініка, патогенез та лікування генералізованого пародонтиту, ускладненого гнійним процесом : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : 14.01.22 / Укр. мед. стомат. академія. Полтава, 2006. 20 с.
 122. Дурягіна Л. Х., Седих В. П., Дорофєєва О. В. Стан системного та місцевого імунітету хворих із одночасним ураженням тканин пародонта і СОПР при поєднанні з депресивними розладами. *Вісник проблем біології і медицини*. 2014. № 2 (1). С. 140–145
 123. Малежик Л. П., Пинелис Ю. И., Малежик М. С. Некоторые аспекты иммунных реакций при хроническом генерализованном пародонти те у пожилых людей. *Стоматология*. 2011. № 6. С. 8–10 .
 124. Мащенко І. С., Самойленко В. А., Пиндус Т. О. Діагностична та прогностична значущість показників біоценозу та локального імунітету при хронічному генералізованому катаральному гінгівіті в юнаків. *Современная стоматология*. 2012. № 3. С. 54–57.
 125. Alleviation of Ig M monoclonal protein interference in nephelometric assays by sample treatment with reducing agent in a chaotropic salt solution / A. Schnebelen, K. Sweat, J. Marshall et al. *Am. J. Clin. Pathol.* 2012. Vol. 137, № 1. P. 26–28.
 126. Cerutti A., Chen K., Chorny A. Immunoglobulin responses at the mucosal interface. *Annu. Rev. Immunol.* 2011. Vol. 29. P. 273–294.
 127. MMP-9/TIMP-1 imbalance induced in human dendritic cells by

- Porphyromonas gingivalis / R. Jotwani, S. V. Eswaran, S. Moonga et al. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2010. Vol. 58, № 3. P. 314–321.
128. Неспрядько В. П., Жданович І. О. Особливості імунологічної адаптації при генералізованому пародонтиті. *Современная стоматология.* 2011. № 3. С. 60–62 .
129. Палійчук І. В., Куцик Р. В., Рожко М. М. Динаміка показників стану місцевого імунітету та мікробіоценозу ротової порожнини при лікуванні хворих з кандидозним протезним стоматитом. *Современная стоматология.* 2012. № 3. С. 76–79.
130. Иммунотропная терапия пародонтита у больных с хроническими вирусными и бактериальными инфекциями / Л. А. Соболева, Р. Р. Сякин, Е. Н. Блинникова и др. *Стоматология.* 2010. Т. 89, № 3. С. 20–23.
131. Гавжа С. И., Воронина А. И., Шкаредная О. В. Анализ клинико-иммунологического статуса полости рта у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом легкой и средней степени тяжести при использовании антибактериальных средств. *Стоматология.* 2010. Т. 89, № 3. С. 30–33.
132. Сергеева И. Е. Исследование функциональных особенностей клеток иммунной системы у больных генерализованным пародонтитом. *Запорожский медицинский журнал.* 2010. Т. 12, № 3. С. 48–50.
133. Стволовые клетки и регенеративная медицина / Под ред. В. А. Ткачука. Москва : Макс-пресс, 2012. 88 с.
134. Зуева Е. Е., Куртова А. В., Комарова Л. С. Стволовые клетки. Некоторые биологические особенности и терапевтические возможности. *Гематология.* 2005. Т. 6. С. 705–724.
135. Белоусов Ю. Б. Некоторые актуальные проблемы клинических исследований стволовых клеток. *Этическая экспертиза биомедицинских исследований.* 2005. Т. 7, № 1. С. 131–138.

136. Кузнецов С. Л., Мушкамбаров Н. Н., Горячкина В. Л. Атлас по гистологии, цитологии и эмбриологии. М. : МИА, 2002. 374 с.
137. Мезен Н. И., Квачева З. Б., Сычик Л. М. Стволовые клетки : Учебно-методическое пособие. 2-е изд., доп. Минск : БГМУ, 2014. 62 с.
138. Хэм А., Кормак Д. Гистология / Пер. с англ. М. : Мир, 1983. Т. 3. 292 с.
139. Шахов В. П. Введение в методы культуры клеток, биоинженерии органов и тканей. Томск, 2004. 385 с.
140. Stem Cell Properties of Human Dental Pulp Stem Cells / S. Gronthos, J. Brahim, W. Li et al. *Journal Dent. Res.* 2002. Vol. 81, № 8. P. 531–535.
141. Osteogenic differentiation of human dental pulp stem cells on β -tricalcium phosphate/poly (l-lactic acid/caprolactone) three-dimensional scaffolds / R. Khanna-Jain, B. Mannerström, A. Vuorinen et al. *Journal of Tissue Engineering.* 2012. Vol. 3, № 1. P. 1–11.
142. In vitro stem cell cultures from human dental pulp and periodontal ligament: new prospects in dentistry / A. Ballini, G. De Frenza, S. Cantore et al. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2007. Vol. 20, № 1. P. 9–16.
143. Bianco P., Gehron R. P. Marrow stromal stem cells. *J. Clin. Invest.* 2000. Vol. 105. P. 1663–1668.
144. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues / A. J. Friedenstein, K. V. Petrakova, A. I. Kurolesova, G. P. Frolova *Transplantation.* 1968. Vol. 6. P. 230–247.
145. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells / M. F. Pittenger, A. M. Mackay, S. C. Beck et al. *Science.* 1999. Vol. 284. P. 143–147.
146. Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells *in vitro* / J. Oswald, S. Boxberger, B. Jorgensen et al. *Stem Cells.* 2004. Vol. 22. P. 377–384.
147. Timing of induction of cardiomyocyte differentiation for *in vitro* cultured

- mesenchymal stem cells: A perspective for emergencies / Z. Tokcaer-Keskin, A. R. Akar, F. Ayaloglu-Butun et al. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2009. Vol. 87. P. 143–150.
148. Molecular pathways involved in neural *in vitro* differentiation of marrow stromal stem cells / F. P. Jori, M. A. Napolitano, M. A. Melone et al. *J. Cell Biochem.* 2005. Vol. 94. P. 645–655.
149. Adipose-derived stem cell: a better stem cell than BMSC / Y. Zhu, T. Liu, K. Song et al. *Cell Biochem. Funct.* 2008. Vol. 26. P. 664–675.
150. Human placenta-derived mesenchymal progenitor cells support culture expansion of long-term culture-initiating cells from cord blood CD34+ cells / Y. Zhang, C. Li, X. Jiang et al. *Exp. hematol.* 2004. Vol. 32. P. 657–664.
151. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood / O. K. Lee, T. K. Kuo, W. M. Chen et al. *Blood.* 2004. Vol. 103. P. 1669–1675.
152. Romanov Y. A., Svintsitskaya V. A., Smirnov V. N. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. *Stem Cells.* 2003. Vol. 21. P. 105–110.
153. Human umbilical cord perivascular (HUCPV) cells: a source of mesenchymal progenitors / R. Sarugaser, D. Lickorish, D. Baksh et al. *Stem Cells.* 2005. Vol. 23, № 2. P. 220–229.
154. Caplan A. I. All MSCs are pericytes? *Cell Stem Cell.* 2008. Vol. 3. P. 229–230.
155. Molecular identity of hematopoietic precursor cells emerging in the human embryo / M. C. Labastie, F. Corts, P. H. Romo et al. *Blood.* 1998. Vol. 92. P. 3624–3635.
156. Tavian M., Hallais M. F., Pault B. Emergence of intraembryonic hematopoietic precursors in the pre-liver human embryo. *Development.* 1999. Vol. 126. P. 793–803.

157. The vascular wall as a source of stem cells / M. Tavian, B. Zheng, E. Oberlin et al. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2005. Vol. 1044. P. 41–50.
158. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs / M. Crisan, S. Yap, L. Casteilla et al. *Cell Stem Cell.* 2008. Vol. 3. P. 301–313.
159. Multipotential human adipose-derived stromal stem cells exhibit a perivascular phenotype *in vitro* and *in vivo* / A. C. Zannettino, S. Paton, A. Arthur et al. *J. Cell Physiol.* 2008. Vol. 214, № 2. P. 413–421.
160. Human adult vena saphena contains perivascular progenitor cells endowed with clonogenic and proangiogenic potential / P. Campagnolo, D. Cesselli, A. Al Haj Zen et al. *Circulation.* 2010. Vol. 121. № 15. P. 1735–1745.
161. Human vascular adventitial fibroblasts contain mesenchymal stem/progenitor cells / A. Hoshino, H. Chiba, K. Nagai et al. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2008. Vol. 368. P. 305–310.
162. The adventitia: a dynamic interface containing resident progenitor cells / M. W. Majesky, X. R. Dong, V. Hoglund et al. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2011. Vol. 31. P. 1530–1539.
163. Emerging biology of vascular wall progenitor cells in health and disease / D. Tilki, H. P. Hohn, B. Ergun et al. *Trends in Molecular Medicine.* 2009. Vol. 15. P. 501–509.
164. Stromal vascular progenitors in adult human adipose tissue / L. Zimmerlin, S. Donnenberg, M. E. Pfeifer et al. *Cytometry Part A.* 2010. Vol. 77. P. 22–30.
165. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation *in vitro* and prolong skin graft survival *in vivo* / A. Bartholomew, C. Sturgeon, M. Siatskas et al. *Exp. Hematol.* 2002. Vol. 30. P. 42–48.
166. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli / M. Di Nicola, C. Carlo-Stella, M. Magni et al. *Blood.* 2002. Vol. 99. P. 3838–3843.

167. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex / K. Le Blanc, L. Tammik, B. Sundberg et al. *Scand J. Immunol.* 2003. Vol. 57. P. 1–20.
168. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation / W. T. Tse, J. D. Pendleton, W. M. Beyer et al. *Transplantation.* 2003. Vol. 75. P. 389–397.
169. Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells / M. Krampera, L. Cosmi, R. Angeli et al. *Stem Cells.* 2006. Vol. 24. P. 386–98.
170. Tyndall A., Walker U. A., Cope A. et al. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells: a review based on an interdisciplinary meeting held at the Kennedy Institute of Rheumatology Division, London, UK, 31 October 2005. *Arthritis Res. Ther.* 2007 Vol. 9. P. 301.
171. Мезенхимные стволовые клетки и иммунопатологические состояния организма / П. В. Кругляков, Е. Л. Лохматова, В. Б. Климович, А. Ю. Зарицкий. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2006. Т. 1, № 3 (5). С. 36–41.
172. Rasmusson I. Immune modulation by mesenchymal stem cells. *Exp. Cell Res.* 2006. Vol. 312. P. 2169–2179.
173. Uccelli A., Moretta L., Pistoia V. Immunoregulatory function of mesenchymal stem cells. *Eur. J. Immunol.* 2006. Vol. 36. P. 2566–2573.
174. Маланчук В. А., Астахова В. С., Циленко О. Л. Остеогенные клетки – предшественники костного мозга человека в реконструктивно-восстановительной хирургии. *Журн. АМН Украины.* 2009. № 2. С. 276–288.
175. Маланчук В. О. Реконструктивно-відновлені операції на нижній щелепі (клініко-лабораторне дослідження) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук : 14.01.22. Київ, 1994. 45 с.

176. Аллаф Хішам. Пульпіт: особливості розвитку та вибір методу лікування : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд.мед.наук : 14.01.22. Київ, 1993. 20 с.
177. Saber S. E. Tissue engineering in endodontitis. *J. Oral Sci.* 2009. Vol. 51. P. 495–507.
178. Циленко О. Л., Сосидко А. В. Сравнительная характеристика типов колоний КОЕ – ф пульпы зуба и стволовых стромальных клеток костного мозга человека в условиях IN VITRO. *Современная ортодонтия.* 2015. № 3. С. 57–60.
179. Геращенко С. Б., Чайковський Ю. Б., Дельцова О. І. Стовбурові клітини зуба. *Галицький лікарський вісник.* 2011. Т. 18, № 4. С. 5–8.
180. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union.* 2010. Vol. 276. P. 33–79.
181. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. К. : Авіцена, 2002. 156 с.
182. Мачоган В. Р., Авдєєв О. В. Спосіб моделювання пародонтиту : патент на корисну модель № 65771, МПК G09В 23/28 (2006.01). № u201107714 ; заявл. 20.06.2011 ; опубл. 12.12.2011. Бюл. № 23.
183. Мезенхимальные стволовые клетки пуповинной крови / Р. А. Мусина и др. *Клеточныетехнологии в биологии и медицине.* 2007. № 1. С. 12–16.
184. Мельникова А. В. Замещение клетками пуповинной крови костных полостей экспериментального остеомиелита (экспериментально еисследование) : автореф. на соискание ученой степени канд. мед. маук : 14.00.27. Уфа, 2009. 21 с.
185. Колесова О. Е., Маркин А. А., Федорова Т. Н. Перексидное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в

- биологических средах. *Лаб. дело*. 1984. № 9. С. 540–546.
186. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. *Современные методы в биохимии*; под ред. В. Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977. С. 66–68.
187. Хышиктуев Б. С., Хышиктуева Н. А., Иванов В. Н. Методы определения продуктов перекисного окисления липидов в конденсате выдыхаемого воздуха и их клиническое значение. *Клиническая лабораторная диагностика*. 1996. № 3. С. 13–15.
188. Макаревич О. П., Голиков П. П. Активность супероксиддисмутазы крови в острый период различных заболеваний. *Лаб. дело*. 1983. № 6. С. 24–27.
189. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале. *Лабораторное дело*. 1985. № 11. С. 678–681
190. Дубинина Е. Е., Ефимова Л. Ф., Сафронова Л. Я. Методы определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988. № 8. С. 16–19.
191. Колб В. Б., Камышников В. С. Определение активности церулоплазмينا в крови. *Справочник по клинической химии*. Минск: Беларусь, 1982. С. 290–291.
192. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 1959. Vol. 82, № 1. P. 70–77.
193. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. *Лаб. дело*. 1986. № 12. С. 724–727.
194. Круглікова Г. О., Штутман Ц. М. Глутатіонпероксидазна та глутатіонредуктазна активність печінки після введення селеніту натрію. *Український біохімічний журнал*. 1976. Т. 48, № 2. С. 223–228.

195. Оськина В. В., Чекалина, Н. И. Средне молекулярне пептиды спинномозговой жидкости при гнойных менингитах . *Лаб. дело*. 1987. № 2. С. 23–25.
196. Габриэлян Н. И., Липатова В. И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей. *Лабораторное дело*. 1984. № 3. С. 138–140.
197. Мустафина Ж. Г., Крамаренко Ю. С., Кобцева В.Ю. Интегральные гематологические показатели в оценке иммунологической реактивности организма у больных с офтальмопатологией. *Клин. лаб. диагностика*. 1999. № 5. С.47–48.
198. Гаєвська М. Ю. Циркуючі імунні комплекси за умов норми та патології. *Вісник наукових досліджень*. 2000. № 7. С. 37–40.
199. Гриневич Ю. А., Алферов А. М. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных. *Лабораторное дело*. 1981. № 8. С. 493–495.
200. Веремеенко К. Н., Голобородько О. П., Кизим А. И. Протеолиз в норме и при патологии. К. : Здоров'я, 1988. 200 с.
201. Стан системи протеїнази/інгібітори протеїназ у щурів у динаміці іммобілізаційного стресу на тлі гіпотиреозу./ О. Є. Любович, І. М. Кліщ, А. С. Вольська, Х. І. Курилою. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, № 3. С. 110–118.
202. Универсальный регулятор – α 2-макроглобулин / Н. А. Зорин, В. Н. Зорина, Р. М. Зорина, В. Г. Левченко. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2004. № 11. С. 18–21.
203. Карягина И. Ю., Зарембский Р. А. Балябина И. Д. Использование метода комплексного определения активности трипсиноподобных протеиназ, α 1-антитрипсина и α 2-макроглобулина в гастроэнтерологической клинике. *Лаб. дело*. 1990. № 2. С. 10–13.

204. Криницька І. Я. Стан протеїназо-інгібіторної системи крові та бронхоальвеолярного змиву у щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом. *Заг. патологія та патологічна фізіологія*. 2012. Т. 7, № 4. С. 92–97.
205. Лабораторні методи дослідження у біології, тваринництві і ветеринарній медицині: довідник / В. В. Влізло, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін. Львів : СПОЛОМ, 2012. 764 с.
206. Диагностическая ценность лейкоцитарных тестов. II. Определение биоцидности лейкоцитов. Методические рекомендации / Под ред. Д. Н. Маянского. Новосибирск, 1996. 32 с.
207. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К. : Морион, 2000. 320 с.
208. Бігуляк Г. Т., Кліщ І. М. Зміни структури компонентів пародонта при моделюванні гострого пародонтиту у щурів та його корекції стовбуровими клітинами. *Вісник проблем біології і медицини*. 2022. № 2. С. 22–31.
209. Biguliak H., Klishch I. M. Structural organization of periodontium and morphological changes in its components in modeled periodontitis and its correction in rats. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 09. P. 862–874.
210. Бігуляк Г. Т., Кліщ І. М. Вплив міогенних стовбурових клітин на перебіг ферментної та не ферментної системи антиоксидантного захисту у щурів з гострим пародонтитом. *Клінічна стоматологія*. 2022. № 2. С. 28–33.
211. Бігуляк Г. Т., Кліщ І. М. Вплив міогенних стовбурових клітин на перебіг запального процесу в щурів із гострим пародонтитом. *Вісник медичних і біологічних досліджень*. 2021. № 1. С. 14–20.
212. Вплив мезенхімальних стовбурових клітин на перебіг імунного

- процесу в щурів з гострим пародонтитом / Г. Т. Бігуляк, А. І. Довгалюк, І. М. Кліщ, О. М.-М. Стецевич. *Медична та клінічна хімія*. 2021. № 2. С. 116–124.
213. Бігуляк Г. Т., Кліщ І. М. Показники системи протеїнази/інгібітори протеїназ при гострому експериментальному пародонтиті та після проведеної корекції стовбуровими клітинами. *Вісник проблем біології і медицини*. 2022. № 3 (166). С. 501–509.
214. Бігуляк Г. Т. Показники ендотоксикозу у щурів з гострим пародонтитом та за корекції стовбуровими клітинами. *Матеріали XXVI Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених*, 13-15 квітня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 69–70.
215. Бігуляк Г. Т. Показники глутатіонової системи у щурів з гострим пародонтитом та за корекції стовбуровими клітинами. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : матеріали підсумкової LXV наук.-практ. конф., 9 червня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 53.
216. Бігуляк Г. Т. Показники клітинної ланки імунної системи у щурів з гострим пародонтитом та за корекції стовбуровими клітинами. *Матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції*, 26-28 жовтня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 6.
217. Бігуляк Г. Т. Вплив стовбурових мезенхімальних клітин на показники окиснювальної модифікації білків у щурів з гострим пародонтитом. *Матеріали Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів*, 15-17 вересня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 98–99.
218. Бєленічев І. Ф., Левицький Є. Л., Губський Ю. І. Антиоксидантна система захисту організму (огляд). *Сучасні проблеми токсикології*. 2002. № 3. С. 24–29.
219. Чорноморець П. М., Нурищенко Н. Є. Запалення при м'язовій травмі: пошкоджуюча та відновлювальна дія. *Фізика живого*. 2008. Т. 16, № 1. С. 171–174.

220. Гайович В. В., Макаренко О. М., Савосько С. І. Порівняльний аналіз змін скелетних м'язів гомілки щура при травматичному ушкодженні сідничного нерва різної локалізації. *Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2013. Т. 13, вип. 4 (44). С.77–81
221. Tidball J. G. Inflammatory processes in muscle injury and repair. *American Journal of Physiology – Regulatory Integrative and Comparative Physiology*. 2005. Vol. 288, № 2. P. R345–R353
222. Tidball J. G. Regulation of muscle growth and regeneration by the immune system. *Nature Reviews. Immunology*. 2017. Vol. 17, № 3. P. 165–178.
223. Дивоча В. А., Дерибон Е. Л. Роль ингибиторов протеиназ в патогенезе заболеваний человека (обзор литературы и собственных исследований, часть 1). *Актуальные проблемы транспортной медицины*. 2013. Т. 1, № 2 (32). С. 127–137.
224. Chrysou K. Lessons from a large trauma center: impact of blunt chest trauma in polytrauma patients – still a relevant problem? *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine*. 2017. Vol. 25, № 1. P. 42.
225. Treatment of Muscle Injuries with Platelet-Rich Plasma: a Review of the Literature. / K. Setayesh et al. *Curr. Rev. Musculoskelet Med*. 2018. Vol. 11. P. 635– 642.
226. Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet rich plasma on human chondrocytes: mechanisms of NF-kappa B inhibition via HGF. / P. Bendinelli et al. *J. Cell Physiol*. 2010. Vol. 225. P. 757–766.
227. Радченко О. М., Кондратюк М. О. Синдром ендогенної інтоксикації в клініці внутрішніх хвороб (огляд літератури та власні спостереження). *Мед. гідрологія та реабілітація*. 2009. Т. 7, № 3. С. 25–32.
228. Ore A., Akinloye O. A. Oxidative Stress and Antioxidant Biomarkers in Clinical and Experimental Models of NonAlcoholic Fatty Liver Disease. *Medicina*. 2019. Vol. 55, № 2. P. 26.

229. Веремеенко К. Н., Голобородько О. П., Кизим А. И. Протеолиз в норме и при патологии. К. : Здоров'я, 1988. 200 с.
230. Дедуль М. И., Радецкая Л. Е., Кирпиченок Л. Н. Система протеолиза в сыворотке крови и перитонеальной жидкости при хирургическом лечении больных эндометриозом. *Новости хирургии*. 2006. Т. 14, № 3. С. 74–80.
231. Универсальный регулятор – α 2-макро-глобулин / Н. А. Зорин, В. Н. Зорина, Р. М. Зорина, В. Г. Левченко. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2004. № 11. С. 18–21.
232. Атаман В. О. Патолофізіологія Том 2. Патолофізіологія органів і систем. Вінниця : ПП «Нова Книга», 2017. С. 89–91.
233. Подунай Ю. А., Залевская И. Н., Руднева И. И. Возрастная динамика активности катепсинов и содержания средномолекулярных пептидов в мышцах морского ерша. *Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия»*. 2009. Т. 22 (61), № 4. С. 128–134.

ДОДАТОК А

Список опублікованих праць за темою дисертації:

1. Бігуляк Г. Т., Кліщ І. М. Вплив міогенних стовбурових клітин на перебіг ферментної та не ферментної системи антиоксидантного захисту у щурів з гострим пародонтитом. *Клінічна стоматологія*. 2022. № 2. С. 28–33. DOI: 10.11603/2311-9624.2022.2.13051
2. Бігуляк Г. Т., Кліщ І. М. Показники системи протеїнази/інгібітори протеїназ при гострому експериментальному пародонтиті та після проведеної корекції стовбуровими клітинами. *Вісник проблем біології і медицини*. 2022. № 3 (166). С. 501–509. DOI: 10.29254/2077-4214-2022-3-166-501-509
3. Бігуляк Г. Т., Кліщ І. М. Вплив міогенних стовбурових клітин на перебіг запального процесу в щурів із гострим пародонтитом. *Вісник медичних і біологічних досліджень*. 2021. № 1. С. 14–20. DOI: 10.11603/bmbr.2706-6290.2021.1.12082
4. Бігуляк Г. Т., Кліщ І. М. Зміни структури компонентів пародонта при моделюванні гострого пародонтиту у щурів та його корекції стовбуровими клітинами. *Вісник проблем біології і медицини*. 2022. № 2. С. 22–31. DOI: 10.29254/2077-4214-2022-2-2-165-22-31
5. Вплив мезенхімальних стовбурових клітин на перебіг імунного процесу в щурів з гострим пародонтитом / Г. Т. Бігуляк, А. І. Довгалюк, І. М. Кліщ, О. М.-М. Стецевич. *Медична та клінічна хімія*. 2021. № 2. С. 116–124. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2021.i2.12259
6. Biguliak H., Klishch I. M. Structural organization of periodontium and morphological changes in its components in modeled periodontitis and its correction in rats. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 09. P. 862–874. DOI: 10.12775/JEHS.2021.11.09.101
7. Бігуляк Г. Т. Показники ендотоксикозу у щурів з гострим пародонтитом та за корекції стовбуровими клітинами. *Матеріали XXVI*

Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених, 13-15 квітня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 69–70.

8. Бігуляк Г. Т. Показники глутатионової системи у щурів з гострим пародонтитом та за корекції стовбуровими клітинами. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : матеріали підсумкової LXV наук.-практ. конф., 9 червня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 53.

9. Бігуляк Г. Т. Показники клітинної ланки імунної системи у щурів з гострим пародонтитом та за корекції стовбуровими клітинами. *Матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції, 26-28 жовтня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 6.*

10. Бігуляк Г. Т. Вплив стовбурових мезенхімальних клітин на показники окиснювальної модифікації білків у щурів з гострим пародонтитом. *Матеріали Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів, 15-17 вересня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 98–99.*

ДОДАТОК Б

Відомості про апробацію результатів дисертації:

- XXVI Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених, (м. Тернопіль, 13-15 квітня 2022 р.) – *публікація тез;*
- підсумкова LXV науково-практична конференція «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (м. Тернопіль, 9 червня 2022 р.) – *публікація тез;*
- XIII Всеукраїнська науково-практична конференція, (м. Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.) – *публікація тез;*
- Пленум Українського наукового товариства патофізіологів (м. Тернопіль, 15-17 вересня 2022 р.) – *публікація тез.*

ДОДАТОК В.1

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
Дніпровського державного
медичного університету,
д. мед. н., професор
Олександр ГУДАР'ЯН



« 05 » 10 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** вплив мезенхімальних стовбурових клітин на перебіг імунного процесу при генералізованому пародонтиті.

2. **Ким та коли запропонований:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра дитячої стоматології, м. Тернопіль, Олени Теліги, 7, 46001, Україна.

3. **Джерело інформації:** Бігуляк Г.Т., Довгалюк А.І., Кліщ І.М. Стецевич О.М-М. Вплив мезенхімальних стовбурових клітин на перебіг імунного процесу в щурів з гострим пародонтитом. Медична та клінічна хімія. 2021. № 2. С. 116-124. DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2021.i2.12259.

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра ортопедичної стоматології Дніпровського державного медичного університету.

5. **Термін впровадження:** 2021/2022 н. р.

6. **Форма впровадження:** у навчально-педагогічний процес зі студентами 4-5 курсів стоматологічного факультету та лікарями-інтернами.

7. **Ефективність впровадження:** матеріали використовуються при проведенні практичних занять, присвячених питанням комплексного лікування хворих на генералізований пародонтит.

8. **Зауваження та пропозиції:** немає.

Відповідальна за впровадження особа:

Завідувачка кафедри
ортопедичної стоматології,
професор, д. мед. н.

Олена ФАСТОВЕЦЬ

ДОДАТОК В.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Тернопільський національний медичний
університет імені
І.Я. Горбачевського МОЗ України
проф. А.Г. Шульгай
09 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Вплив міогенних стовбурових клітин на перебіг ферментної та неферментної системи антиоксидантного захисту у щурів з гострим пародонтитом.

2. **Установа-розробник:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра дитячої стоматології, м. Тернопіль, О. Теліги, 7, 46001, Україна.

3. **Розроблювачі:** Бігуляк Галина Теодорівна.

Джерело інформації:

Бігуляк Г.Т., Кліщ І.М. Вплив міогенних стовбурових клітин на перебіг ферментної та не ферментної системи антиоксидантного захисту у щурів з гострим пародонтитом. Клінічна стоматологія. 2022. № 2. С. 28-33.

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра дитячої стоматології стоматології.

5. **Результати застосування** пропозиції з січня 2021 р по вересень 2022 р. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри дитячої стоматології на лекціях і практичних заняттях на 5 курсі з дитячої терапевтичної стоматології.

6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо впливу міогенних стовбурових клітин на перебіг ферментної та неферментної системи антиоксидантного захисту у щурів з гострим пародонтитом.

7. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

Тернопільський національний
медичний університет імені
І.Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор

О.В. Авдєєв

ДОДАТОК В.3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Тернопільський національний медичний
університет імені
І.Я. Горбачевського МОЗ України
проф. А.Г. Шульгай
09 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Вплив міогенних стовбурових клітин на перебіг запального процесу в шурів із гострим пародонтитом.

2. **Установа-розробник:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра дитячої стоматології, м. Тернопіль, О. Теліги, 7, 46001, Україна.

3. **Розроблювачі:** Бігуляк Галина Теодорівна.
Джерело інформації:

Бігуляк Г.Т., Кліщ І.М. Вплив міогенних стовбурових клітин на перебіг запального процесу в шурів із гострим пародонтитом. Вісник медичних і біологічних досліджень. 2021. № 1. С. 14-20

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра терапевтичної стоматології.

5. **Результати застосування** пропозиції з січня по червень 2021 рр. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри терапевтичної стоматології на лекціях і практичних заняттях.

6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо впливу міогенних стовбурових клітин на перебіг запального процесу в шурів із гострим пародонтитом.

7. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
Тернопільський національний
медичний університет імені
І.Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор

М.А. Лучинський

ДОДАТОК В.4

«Затверджую»

Проректор закладу вищої освіти
з наукової роботиВінницького національного медичного
університету ім. М. І. Пирогова
професор Олег ВЛАСЕНКО

19

10

2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Пропозиція для впровадження: Вплив мезенхімальних стовбурових клітин на перебіг імунного процесу в щурів з гострим пародонтитом.

- 1. Установа-розробник:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра дитячої стоматології, м. Тернопіль, О. Теліги, 7, 46001, Україна.
- 2. Розробники:** Бігуляк Галина Теодорівна.
- 3. Джерела інформації:** Бігуляк Г.Т., Довгалюк А.І., Кліщ І.М. Стецевич О.М.-М. Вплив мезенхімальних стовбурових клітин на перебіг імунного процесу в щурів з гострим пародонтитом. Медична та клінічна хімія. 2021. № 2. С. 116-124. DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2021.i2.12259
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, кафедра терапевтичної стоматології.
- 5. Результати застосування пропозицій:** з вересня 2022 по листопад 2022рр. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри терапевтичної стоматології на лекціях і практичних заняттях.
- 6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо впливу мезенхімальних стовбурових клітин на перебіг імунного процесу в щурів з гострим пародонтитом.
- 7. Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри терапевтичної стоматології

Вінницького національного

медичного університету ім. М. І. Пирогова

д.мед.н., професор

Марія ШИНКАРУК-ДИКОВИЦЬКА

ДОДАТОК В.5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Тернопільського національного медичного
університету імені
І.Я. Горбачевського МОЗ України
проф. А.Г. Шульгай
09 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Зміни структури компонентів пародонта при моделюванні гострого пародонтиту у щурів та його корекції стовбуровими клітинами.

2. **Установа-розробник:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра дитячої стоматології, м. Тернопіль, О. Теліги, 7, 46001, Україна.

3. **Розроблювачі:** Бігуляк Галина Теодорівна.

Джерело інформації:

Бігуляк Г.Т., Кліщ І.М. Зміни структури компонентів пародонта при моделюванні гострого пародонтиту у щурів та його корекції стовбуровими клітинами. Вісник проблем біології і медицини 2022. № 2. С. 22-31.

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра гістології та ембріології.

5. **Результати застосування** пропозиції з січня по червень 2021 рр. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри гістології та ембріології на лекціях і практичних заняттях.

6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо зміни структури компонентів пародонта при моделюванні гострого пародонтиту у щурів та його корекції стовбуровими клітинами.

7. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри гістології та ембріології
Тернопільського національного
медичного університету
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
доктор біологічних наук, професор

З.М. Небесна