

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

**ХУДАН РОМАН ІВАНОВИЧ**

УДК: 616.314.17-008.1-02:616.153.478.6

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
**ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ГЕНЕРАЛІЗОВАНОГО**  
**ПАРОДОНТИТУ, АСОЦІЙОВАНОГО З ХРОНІЧНОЮ**  
**ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЄЮ**

221 «Стоматологія»

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело \_\_\_\_\_ Р.І. Худан

Науковий керівник: Корда Михайло Михайлович, доктор медичних наук, професор

Тернопіль – 2022

## АНОТАЦІЯ

*Худан Р.І.* Патогенетичні особливості перебігу генералізованого пародонтиту, асоційованого з хронічною гіпергомоцистеїнемією. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 221 «Стоматологія» («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, 2023.

Дисертація присвячена вивченню закономірностей перебігу ліпополісахарид (ЛПС)-індукованого пародонтиту у щурів на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ). Встановлено, що ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується вірогідним зростанням вмісту реактанта гострої фази запалення – С-реактивного протеїну (СРП), як у гомогенаті пародонта (в 2,2 раза;  $p=0,003$ ), так і у сироватці крові (на 56,7 %;  $p=0,018$ ) та гіперпродукцією прозапальних цитокінів на тлі зниження вмісту протизапальних цитокінів. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює продукцію СРП та цитокіновий дисбаланс за умови пародонтиту, що підтверджується переважанням вмісту СРП на 82,8 % ( $p=0,009$ ) та вмісту TNF- $\alpha$  в 2,3 раза ( $p<0,001$ ) у гомогенаті пародонта тварин з поєднаною патологією відносно щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології. Проведений кореляційний аналіз виявив вірогідні прямі кореляційні взаємодії високої сили між рівнем гомотеїну (ГЦ) у сироватці крові та вмістом СРП і TNF- $\alpha$ , як у сироватці крові ( $r=0,78$ ;  $p=0,003$  і  $r=0,76$ ;  $p=0,004$  відповідно), так і у гомогенаті пародонта ( $r=0,85$ ;  $p<0,001$  і  $r=0,78$ ;  $p=0,003$  відповідно).

ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується вірогідним підвищенням інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення на тлі

зниження функціональної активності антиоксидантного захисту як у гомогенаті пародонта, так і у крові. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює оксидативний стрес за умови пародонтиту, на що вказують вірогідно вищі значення ТБК-АП та окиснювальної модифікації протеїнів як у сироватці крові, так і у гомогенаті пародонта відносно ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології та низка вірогідних кореляційних взаємодій між рівнем ГЦ у сироватці крові та показниками пероксидації ліпідів та протеїнів.

Інтенсифікація реакцій пероксидації за умови ЛПС-індукованого пародонтиту супроводжується підвищенням рівня ендогенної інтоксикації, на що вказує зростання вмісту молекул середньої маси. Інтенсивність змін є вищою у гомогенаті пародонта, що ймовірно пов'язано з безпосереднім пошкодженням, деструктивними змінами, розвитком запалення, гіпоксією та активацією вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює ендогенну інтоксикацію при ЛПС-індукованому пародонтиті на що вказують вірогідно вищі значення вмісту молекул середньої маси (МСМ) у досліджуваних біологічних рідинах за умови поєднаної патології та прямі кореляційні взаємодії між рівнем ГЦ у сироватці крові і вмістом МСМ<sub>1</sub> і МСМ<sub>2</sub> не лише у сироватці крові ( $r=0,79$ ;  $p=0,002$  і  $r=0,84$ ;  $p=0,001$  відповідно), але й у гомогенаті пародонта ( $r=0,62$ ;  $p=0,030$  і  $r=0,80$ ;  $p=0,002$  відповідно).

ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується підвищенням фагоцитарної активності нейтрофілів крові з одночасним зменшенням їх поглинаючої здатності та активацією оксиген-залежних механізмів мікробіцидності нейтрофілів крові. Хронічна тіолактонова ГГЦ негативно впливає на функціональну та метаболічну активність фагоцитів за умови пародонтиту, що підтверджується порушенням процесу фагоцитозу, більш вираженим зменшенням поглинаючої здатності нейтрофілів крові та виснаженням резервів цих клітин.

ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується гіперпродукцією активних форм кисню (АФО) (на 87,9 %;  $p=0,001$ ) і зниженням

мітохондріального трансмембранного потенціалу ( $\Delta\Psi_m$ ) (на 73,3 %;  $p=0,001$ ), наслідком чого є порушення цілісності зовнішньої мітохондріальної мембрани та запуск апоптотичної загибелі нейтрофілів крові. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює ініціацію програмованої загибелі клітин, що підтверджується вірогідним переважанням кількості нейтрофілів крові з ознаками апоптозу на 71,4 % відносно тварин з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології та наявністю вірогідних кореляційних взаємодій між рівнем ГЦ у сироватці крові та кількістю ANV<sup>+</sup>/PI<sup>+</sup>- клітин ( $r=0,65$ ;  $p=0,022$  і  $r=0,66$ ;  $p=0,020$  відповідно), кількістю нетрофілів із підвищеною генерацією АФО ( $r=0,82$ ;  $p=0,001$ ) та кількістю нетрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$  ( $r=0,65$ ;  $p=0,022$ ) за умови поєднаної патології.

ЛПС-індуковане запалення тканин пародонта у щурів супроводжується катаболізмом сполучної тканини, про що свідчить вірогідне підвищення колагенолітичної активності, збільшення вмісту вільного оксипроліну, зростання вмісту маркерів деструкції глікопротеїнів – сіалових кислот та вільної фукози, підвищення вмісту маркерів розпаду протеогліканів – глікозаміногліканів (ГАГ) у сироватці крові. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює деструкцію сполучної тканини за умови пародонтиту, що підтверджується вірогідним перевищенням показників колагенолітичної активності (в 2,5 рази;  $p=0,009$ ), вмісту ГАГ (на 61,7 %;  $p=0,007$ ) та сіалових кислот (на 65,5 %;  $p=0,008$ ) відносно тварин з ЛПС-індукованим запаленням без супутньої патології.

ЛПС-індуковане запалення пародонта у щурів супроводжується зниженням активності лужної фосфатази (ЛФ) (на 40,1 %;  $p=0,001$ ) та індексу мінералізації (в 3,5 рази;  $p<0,001$ ) з одночасним підвищенням активності кислої фосфатази (КФ) (в 2,0 рази;  $p<0,001$ ) у гомогенаті пародонта, що свідчить про пригнічення синтетичних процесів у кістковій тканині й активацію реакцій остеорезорбції. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює порушення кісткового метаболізму за умови пародонтиту, що підтверджується більш вираженими

змінами досліджуваних показників відносно тварин з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено пряму кореляційну взаємодію високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові і активністю КФ у сироватці крові ( $r=0,89$ ;  $p<0,001$ ) та пряму кореляційну взаємодію помірної сили між рівнем ГЦ у сироватці крові і активністю КФ у гомогенаті пародонта ( $r=0,66$ ;  $p=0,019$ ), що підтверджує вплив хронічної тіолактонової ГГЦ на кісткове ремоделювання, особливо на процеси остеорезорбції.

*Наукова новизна одержаних результатів.* У дисертаційній роботі вперше на підставі комплексних досліджень та оцінки порушень метаболізму кісткової та сполучної тканин, цитокіногенезу, вираженості запалення, функціональної і метаболічної активності нейтрофілів крові, енергозабезпечувального окиснення, реалізації програмованої загибелі нейтрофілів крові, пероксидного окиснення ліпідів і протеїнів, антиоксидантного захисту, вираженості ендогенної інтоксикації проведено порівняльне вивчення перебігу експериментального ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології та пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ.

Вперше встановлено взаємозв'язки між рівнем ГЦ в сироватці крові та ступенем тяжкості запальних і деструктивних процесів у тканинах пародонта як за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, так і за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ.

Вперше продемонстровано, що супутня хронічна ГГЦ вірогідно посилює синтез реактантів гострої фази запалення та цитокіновий дисбаланс, що відіграє важливу роль в прогресуванні пародонтиту та запуску метаболічних каскадних реакцій.

Вперше показано, що супутня хронічна ГГЦ вірогідно посилює інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів в тканинах пародонта на тлі зниження функціональної активності

антиоксидантного захисту, що супроводжується зростанням ендогенної інтоксикації.

Вперше визначено, що супутня хронічна тіолактонова ГГЦ негативно впливає на функціональну та метаболічну активність нейтрофілів крові за умови ЛПС-індукованого пародонтиту, що підтверджується порушенням процесу фагоцитозу, більш вираженим зменшенням поглинаючої здатності нейтрофілів крові та виснаженням резервів цих клітин відносно тварин без супутньої патології.

Вперше доведено, що супутня хронічна тіолактонова ГГЦ посилює ініціацію програмованої загибелі нейтрофілів крові за рахунок запуску мітохондріального шляху апоптотичної загибелі клітин.

Вперше показано, що супутня хронічна тіолактонова ГГЦ інтенсифікує деструкцію сполучної тканини за умови ЛПС-індукованого пародонтиту та пригнічує синтетичні процеси у кістковій тканині на тлі активації реакцій остеорезорбції.

*Практичне значення отриманих результатів.* Отримані дані розкривають нові аспекти патогенезу експериментального ЛПС-індукованого пародонтиту та поглиблюють існуючі уявлення про можливі молекулярні механізми впливу підвищених рівнів ГЦ за умови хронічної ГГЦ на перебіг запального процесу у тканинах пародонта, що відкриває можливості для вдосконалення патогенетичної терапії такої поєднаної патології.

Основні положення дисертаційної роботи можуть бути використані у навчальному процесі при викладанні патологічної фізіології, клінічної патофізіології, терапевтичної стоматології студентам медичних навчальних закладів, а також у роботі науково-дослідних лабораторій за даною проблематикою.

Результати роботи впроваджено в наукові дослідження та навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології, терапевтичної стоматології, ортопедичної стоматології Тернопільського національного медичного

університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України; на кафедрі патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету; на кафедрі патологічної фізіології, терапевтичної стоматології Буковинського державного медичного університету.

*Ключові слова:* експериментальний пародонтит, гіпергомоцистеїнемія, запалення, оксидативний стрес, функціональний стан нейтрофілів, кістковий метаболізм, метаболізм сполучної тканини, ендогенна інтоксикація.

## SUMMARY

*Khudan R. I.* Pathogenetic features of the generalized periodontitis course associated with chronic hyperhomocysteinemia. – Qualification scientific work on the rights of a manuscript.

Thesis 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, 2023.

The dissertation is devoted to the study of the regularities of the course of lipopolysaccharide-induced periodontitis in rats with underlying chronic thiolactone hyperhomocysteinemia. It has been established that lipopolysaccharide (LPS)-induced periodontitis in rats is accompanied by a significant increase of the reactant content of the acute phase of inflammation – C-reactive protein (CRP), both in periodontal homogenate (by 2.2 times;  $p=0.003$ ) and in the blood serum (by 56.7 %;  $p=0.018$ ) and hyperproduction of pro-inflammatory cytokines in case of a decreased content of anti-inflammatory cytokines. Chronic thiolactone hyperhomocysteinemia (HHcy) enhances CRP production and cytokine imbalance in case of periodontitis, which is confirmed by the predominance of CPR content by 82.8 % ( $p=0.009$ ) and TNF- $\alpha$  content by 2.3 times ( $p<0.001$ ) in the periodontal homogenate of animals with

combined pathology in relation to rats with LPS-induced periodontitis without concomitant pathology. The correlation analysis revealed significant strong direct correlations between the level of homocysteine (Hcys) in the blood serum and the content of CRP and TNF- $\alpha$ , both in the blood serum ( $r=0.78$ ;  $p=0.003$  and  $r=0.76$ ;  $p=0.004$ , respectively) and in the periodontal homogenate ( $r=0.85$ ;  $p<0.001$  and  $r=0.78$ ;  $p=0.003$ , respectively).

LPS-induced periodontitis in rats is accompanied by a significant increase of the intensity of free radical oxidation processes in case of decreased functional activity of antioxidant protection in both periodontal homogenate and blood. Chronic thiolactone HHcy enhances oxidative stress in case of periodontitis, as indicated by significantly higher values of TBA-AP and oxidative modification of proteins in both blood serum and periodontal homogenate relative to LPS-induced periodontitis without concomitant pathology and a number of significant correlations between Hcys level in blood serum and indices of lipid and protein peroxidation.

Intensification of peroxidation reactions in case of LPS-induced periodontitis is accompanied by an increase of the level of endogenous intoxication, which is indicated by an increase of the content of medium mass molecules. The intensity of the changes is higher in the periodontal homogenate, which is probably associated with direct damage, destructive changes, progression of inflammation, hypoxia and activation of free radical oxidation of lipids and proteins. Chronic thiolactone HHcy enhances endogenous intoxication in case of LPS-induced periodontitis, which is indicated by significantly higher values of the content of medium mass molecules (MMM) in the studied biological fluids in case of combined pathology and direct correlations between the level of Hcys in blood serum and the content of MMM1 and MMM2 not only in the blood serum ( $r=0.79$ ;  $p=0.002$  and  $r=0.84$ ;  $p=0.001$ , respectively), but also in periodontal homogenate ( $r=0.62$ ;  $p=0.030$  and  $r=0.80$ ;  $p=0.002$ , respectively).

LPS-induced periodontitis in rats is accompanied by an increase of phagocytic activity of blood neutrophils with a simultaneous decrease of their absorptive



capacity and activation of oxygen-dependent microbicidal mechanisms of blood neutrophils. Chronic thiolactone HHcy adversely affects the functional and metabolic activity of phagocytes in case of periodontitis, which is confirmed by a violation of the phagocytosis process, a more pronounced decrease of the absorptive capacity of blood neutrophils and depletion of reserves of these cells.

LPS-induced periodontitis in rats is accompanied by overproduction of reactive oxygen species (ROS) (by 87.9 %;  $p=0.001$ ) and a decrease of mitochondrial transmembrane potential ( $\Delta\Psi_m$ ) (by 73.3 %;  $p=0.001$ ), resulting in a violation of outer mitochondrial membrane integrity and triggering of apoptotic death of blood neutrophils. Chronic thiolactone HHcy enhances the initiation of programmed cell death, as evidenced by a significant predominance of blood neutrophils with signs of apoptosis by 71.4% compared to animals with LPS-induced periodontitis without concomitant pathology and the presence of significant correlations between the level of Hcys in the blood serum and the number of ANV<sup>+</sup>/PI<sup>+</sup> – cells ( $r=0.65$ ;  $p=0.022$  and  $r=0.66$ ;  $p=0.020$ , respectively), the number of neutrophils with increased ROS generation ( $r=0.82$ ;  $p=0.001$ ) and the number of neutrophils with reduced  $\Delta\Psi_m$  ( $r=0.65$ ;  $p=0.022$ ) in case of combined pathology.

LPS-induced inflammation of periodontal tissues in rats is accompanied by connective tissue catabolism, as evidenced by a significant increase of collagenolytic activity, increased content of free oxyproline, increased content of markers of glycoprotein destruction – sialic acids and free fucose, increased content of markers of proteoglycan breakdown – glycosaminoglycans (GAGs) in the blood serum. Chronic thiolactone HHcy enhances the destruction of connective tissue in case of periodontitis, which is confirmed by the significant excess of collagenolytic activity indices (by 2.5 times;  $p=0.009$ ), the content of GAG (by 61.7 %;  $p=0.007$ ) and sialic acids (by 65, 5 %,  $p=0.008$ ) in relation to animals with LPS-induced inflammation without concomitant pathology.

LPS-induced periodontal inflammation in rats is accompanied by a decrease of alkaline phosphatase (ALP) activity (by 40.1 %;  $p=0.001$ ) and mineralization index

(by 3.5 times;  $p < 0.001$ ) with a simultaneous increase of acid phosphatase (AP) activity (by 2.0 times,  $p < 0.001$ ) in the periodontal homogenate, which indicates the suppression of synthetic processes in bone tissue and activation of osteoresorption reactions. Chronic thiolactone HHcy enhances disorders of bone metabolism in case of periodontitis, which is confirmed by more pronounced changes of the studied indices in relation to animals with LPS-induced periodontitis without concomitant pathology. A strong direct correlation between the level of Hcys in the blood serum and the activity of AP in the blood serum ( $r = 0.89$ ;  $p < 0.001$ ) and a moderate direct correlation between the level of Hcys in blood serum and AP activity in periodontal homogenate ( $r = 0.66$ ;  $p = 0.019$ ) is revealed in rats with LPS-induced periodontitis in case of chronic thiolactone HHcy, which confirms the effect of chronic thiolactone HHcy on bone remodeling, especially on the processes of osteoresorption.

*Scientific novelty of the study.* In the dissertation work for the first time on the basis of complex researches and an assessment of metabolism disorders of bone and connective tissues, cytokinogenesis, the severity of inflammation, functional and metabolic activity of blood neutrophils, energy supply oxidation, realization of programmed blood neutrophil death, peroxide oxidation of lipids and proteins, antioxidant protection, the severity of endogenous intoxication, a comparative study of the course of experimental LPS-induced periodontitis without concomitant pathology and periodontitis in case of chronic thiolactone HHcy is conducted.

For the first time, a correlation between the level of Hcys in blood serum and the severity of inflammatory and destructive processes in periodontal tissues was established both in LPS-induced periodontitis without concomitant pathology and in periodontitis in case of chronic thiolactone HHcy.

It has been shown for the first time that concomitant chronic HHcy significantly enhances the synthesis of acute inflammatory reactants and cytokine imbalance, which plays an important role in the progression of periodontitis and the initiation of metabolic cascade reactions.

It has been shown for the first time that concomitant chronic HHcy significantly increases the intensity of free radical oxidation of lipids and proteins processes in periodontal tissues in case of decreased functional activity of antioxidant protection, accompanied by an increase of endogenous intoxication.

It has been determined for the first time that concomitant chronic thiolactone HHcy adversely affects the functional and metabolic activity of blood neutrophils in case of LPS-induced periodontitis, which is confirmed by a violation of phagocytosis, a more pronounced decrease of the absorption capacity of blood neutrophils and depletion of the reserves of these cells compared to animals without concomitant pathology.

It has been shown for the first time that concomitant chronic thiolactone HHcy enhances the initiation of programmed blood neutrophil death by triggering the mitochondrial pathway of apoptotic cell death.

It has been shown for the first time that concomitant chronic thiolactone HHcy intensifies connective tissue destruction in case of LPS-induced periodontitis and inhibits synthetic processes in bone tissue in case of activation of osteoresorption reactions.

*Practical significance of the results.* The obtained data reveal new aspects of the pathogenesis of experimental LPS-induced periodontitis and deepen the existing ideas about possible molecular mechanisms of influence of Hcys increased levels in case of chronic HHcy on the course of inflammatory process in periodontal tissues, which opens opportunities for improving pathogenetic therapy of such combined pathology. The main provisions of the dissertation can be used in the educational process in the teaching of pathological physiology, clinical pathophysiology, therapeutic dentistry to students of medical institutions, as well as in the work of research laboratories on this issue.

The conceptual issues of the dissertation are introduced into the educational process and research practice of the pathological physiology, therapeutic dentistry, and orthopedic dentistry departments of I. Horbachevsky Ternopil National Medical

University; at the pathological physiology department of Ivano-Frankivsk National Medical University; at the pathological physiology and therapeutic dentistry departments of Bukovynian State Medical University.

*Key words:* experimental periodontitis, hyperhomocysteinemia, inflammation, oxidative stress, functional state of neutrophils, bone metabolism, connective tissue metabolism, endogenous intoxication.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:*

1. Худан Р. І., Корда М. М. Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Клінічна стоматологія*. 2021. № 3 (36). С. 48–58. doi: 10.11603/2311-9624.2021.3.12463

2. Вплив хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії на цитокіновий профіль щурів із ліпополісахарид-індукованим пародонтитом / Р. І. Худан, М. В. Кирилів, І. Р. Бекус, М. М. Корда. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. Вип. 3 (161). С. 337–342. doi: 10.29254/2077-4214-2021-3-161-337-342

3. Hydrogen sulfide metabolism and its role in the development of periodontal diseases / R. Khudan, N. Svanishvili, Z. Dumbadze, I. Krynytska, M. Marushchak, M. Korda. *Romanian journal of diabetes, nutrition and metabolism*. 2021. Vol. 28, № 3. P. 311–315. doi: <https://doi.org/10.46389/rjd-2021-1047>  
*SCOPUS (Q4)*

4. Худан Р. І., Корда М. М. Кореляційні взаємодії між показниками кісткового метаболізму та реалізацією програмованої загибелі нейтрофілів крові за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Клінічна стоматологія*. 2021. № 4 (37). С. 52–59. doi: 10.11603/2311-9624.2021.4.12791

5. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on phagocytic and metabolic activity of peripheral blood neutrophils in case of lipopolysaccharide-induced periodontitis / R. Khudan, I. Bandas, A. Mykolenko, N. Svanishvili, Z. Dumbadze, I. Krynytska. *Georgian Medical News*. 2021. Vol. 321 (12). P. 119–125. *SCOPUS (Q4)*

6. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on connective tissue disorders in case of lipopolysaccharide-induced periodontitis / R. Khudan, M. Kyryliv, I. Bekus, A. Demyd, M. Koval, V. Luchynskiy. *Journal of International Dental and Medical Research*. 2022. Vol. 15, № 1. P. 35–41. *SCOPUS (Q3)*

7. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on the features of bone metabolism in case of lipopolysaccharide-induced periodontitis / R. Khudan, I. Krynytska, M. Marushchak, M. Korda. *Dental and Medical Problems*. 2022. Vol. 59, № 2. P. 255–261. doi: 10.17219/dmp/143948 *SCOPUS (Q3)*

8. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on characteristics of peripheral neutrophils' programmed death in lipopolysaccharide-induced periodontitis / R. Khudan, I. Krynytska, M. Marushchak, M. Korda. *Journal of Stomatology*. 2022. Vol. 75, № 3. P. 155–162. doi: <https://doi.org/10.5114/jos.2022.119129> *SCOPUS (Q3)*

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

9. Худан Р. І. Зміни вмісту глікозаміногліканів за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : матеріали підсумкової LXIV наук.-практ. конф., 11 червня 2021 р. Тернопіль, 2021. С. 200–202.

10. Худан Р. І., Гецько Н. В. Особливості кальцій-фосфорного обміну за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Topical issues of modern science, society and education* : abstracts of the 1 st International scientific and practical conference,

August 8-10, 2021. Kharkiv, 2021. С. 220–222.

11. Худан Р. І., Гецько Н. В. Особливості ендогенної інтоксикації за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Пріоритетні напрями вирішення актуальних проблем медицини* : матеріали міжнародної наук.-практ. конф., 10–11 вересня 2021 р. Дніпро, 2021. С. 18–21.

12. Худан Р. І. Зміни вмісту С-реактивного протеїну за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту на тлі хронічної гіпергомоцистеїнемії. *УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень участю* : матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії, 8 жовтня 2021 р. Полтава, 2021. С. 178–180.

13. Худан Р. І. Особливості функціонування фагоцитуючих клітин крові за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту у поєднанні із хронічною гіпергомоцистеїнемією. *Oral and General Health*. 2021. Т. 2, № 3. С. 63.

14. Khudan R., Krynytska I. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on peripheral blood neutrophils in case of lipopolysaccharide-induced periodontitis. *3<sup>rd</sup> International Conference on Medical and Health Sciences* : abstracts, December 24-25, 2021. Bingol, 2021. P. 135.

## ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень	19
Вступ	22
Розділ 1 Метаболізм гомоцистеїну і гідроген сульфїду та їх роль у розвитку патології ротової порожнини (огляд літератури)	29
1.1 Характеристика сірковмісних амінокислот та метаболізм гомоцистеїну і гідроген сульфїду	29
1.2 Гіпергомоцистеїнемія як мультифакторний процес	38
1.3 Взаємозв'язок гомоцистеїну та гідроген сульфїду з захворюваннями ротової порожнини	42
Розділ 2 Матеріали та методи дослідження	53
2.1 Характеристика експериментального дослідження	53
2.2 Дослідження показників метаболізму гомоцистеїну	57
2.3 Оцінка тяжкості запального процесу	58
2.4 Дослідження показників вільнорадикального окиснення	59
2.5 Дослідження функціонування антиоксидантної системи	61
2.6 Оцінка рівня ендогенної інтоксикації	65
2.7 Дослідження функціональної та метаболічної активності нейтрофілів крові	65
2.8 Оцінка продукції активних форм оксигену нейтрофілами крові	67
2.9 Оцінка зміни мітохондріального трансмембранного потенціалу нейтрофілів крові	68
2.10 Оцінка апоптозу/некрозу нейтрофілів крові	69
2.11 Дослідження показників енергозабезпечувального окиснення у мітохондріях нейтрофілів крові	70

2.12 Дослідження показників кісткового метаболізму та кальцій-фосфорного обміну	72
2.13 Дослідження показників метаболізму сполучної тканини	73
2.14 Статистичні методи дослідження	76
Розділ 3 Особливості запального процесу за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії	78
3.1 Особливості продукції реактантів гострої фази запалення за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії	78
3.2 Зміни цитокінового профілю за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії	81
Розділ 4 Особливості вільнорадикального окиснення та ендогенної інтоксикації за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії	93
4.1 Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії	93
4.2 Зміни показників окиснювальної модифікації протеїнів за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії	98
4.3 Особливості функціонування антиоксидантної системи за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах	



пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії	103
4.4 Особливості ендогенної інтоксикації за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії	110
Розділ 5 Особливості функціональної і метаболічної активності, енергозабезпечення та реалізації програмованої загибелі нейтрофілів крові у щурів за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії	117
5.1 Зміни функціональної і метаболічної активності нейтрофілів крові за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії	117
5.2 Зміни енергозабезпечення та реалізації програмованої клітинної загибелі нейтрофілів крові за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії	125
Розділ 6 Особливості показників деструкції сполучної тканини та кісткового метаболізму у щурів за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії	137
6.1 Особливості показників деструкції сполучної тканини та кальцій-фосфорного обміну за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії	137

6.2 Особливості показників кісткового метаболізму за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії	146
Розділ 7 Аналіз та узагальнення результатів дослідження	165
Висновки	188
Список використаних джерел	192
Додатки	230

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АОС – антиоксидантна система  
АФО – активні форми кисисену  
ВРО – вільнорадикального окиснення  
ГАГ – глікозаміноглікани  
ГГЦ – гіпергомоцистеїнемія  
ГП – генералізований пародонтит  
ГПЛ – гідропероксици ліпідів  
ГЦ – гомоцистеїн  
ГЦ-тіолактон – гомоцистеїну тіолактон  
ЕІ – ендогенна інтоксикація  
ІМ – індекс мінералізації  
КФ – кисла фосфатаза  
ЛПС – ліпополісахарид  
ЛФ – лужна фосфатаза  
МСМ – молекули середньої маси  
НАДФ – нікотинаміааденіндинуклеотидфосфат  
НСТ-тест – тест з нітросинім тетразолієм  
ОМП – окиснювальна модифікація протеїнів  
ПМЛ – поліморфноядерні лейкоцити  
ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів  
СДГ – сукцинатдегідрогеназа  
СОД – супероксиддисмутаза  
СРП – С-реактивний протеїн  
СТ – сполучна тканина  
ТБК-АП – активні продукти тіобарбітурової кислоти  
тРНК – транспортна РНК

ФІ – фагоцитарний індекс  
ФЧ – фагоцитарне число  
ЦХО – цитохромоксидаза  
3-MST – 3-меркаптопіруватсульфуртрансфераза  
ANV<sup>+</sup> – анексин V позитивні клітини  
Ca – загальний кальцій  
Ca<sup>2+</sup> – іонізований кальцій  
САТ – цистеїнамінотрансфераза  
CBS – цистатіонін-β-синтаза  
CSE – цистатіонін-γ-ліаза  
DAO – D-аміноацидоксидаза  
H<sub>2</sub>S – гідроген сульфід  
IL – інтерлейкін  
MAPK – мітогенактивовані протеїнкінази  
MMP – матриксні металопротеїнази  
MTHFR – 5,10- метилентетрагідрофолатредуктаза  
MTR – 5- метилтетрагідрофолат-гомоцистеїн метилтрансфераза  
MTRR – метилтрансферазаредуктаза  
NF-κB – ядерний фактор транскрипції каппа В  
NMDA-рецептори – N-метил-D-аспартатні рецептори  
NO – нітроген (II) оксид  
Nox – НАДФН-оксидаза  
P – неорганічний фосфор  
PGE2 – простагландин E2  
RANKL – ліганд рецептора активатора ядерного фактора κB  
SAH – S-аденозилгомоцистеїн  
SAM – S-аденозил-L-метіонін  
SNP – однонуклеотидний поліморфізм

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

$\Delta\Psi_m$  – мітохондріальний трансмембранний потенціал

$O_2^{\bullet-}$  – супероксид аніон радикал

$PI^+$  – пропідій йодид позитивні клітини

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Генералізований пародонтит (ГП), незважаючи на значний науково-технічний прогрес і високі досягнення медицини, і досі залишається однією з найактуальніших проблем стоматології, що зумовлено високою розповсюдженістю захворювання, значним наростанням деструктивних форм уже в молодому віці, складністю лікування, високою частотою загострень і соціально-економічними збитками [1-9]. Згідно з даними ВООЗ, захворюваність на ГП корелює з віком: у групі осіб від 35 до 44 років поширеність даної патології досягає 50 %, у осіб старше – 65–78 %, що призводить в 40 % випадків до втрати зубів [10]. В Україні поширеність захворювань пародонта серед населення у віці старше 35-ти років складає 85–95 % [11]. Крім того, епідеміологічні дослідження останніх років показали високу поширеність захворювань пародонта у дітей і підлітків. Так, поширеність гінгівітів у дитячому віці складає 80 %, а пародонтитів – 3–5 % [12].

ГП є мультифакторним захворюванням, що характеризується хронічним перебігом з періодичними загостреннями запального процесу в пародонті. Прогресування деструктивних явищ у пародонтальних тканинах залежить від багатьох факторів [10, 13], у тому числі і супутніх загальносоматичних патологій, які вносять істотну відмінність в етіопатогенез захворювань пародонта. Для поєднаних уражень характерним є взаємообтяжений перебіг захворювань, розвиток ускладнень та гірший прогноз, збільшення матеріальних затрат на лікування [14-17]. За даними А.В. Борисенка та співавторів, частота та інтенсивність захворювань пародонта зростають пропорційно тривалості та тяжкості основного загальносоматичного захворювання [18].

Однією із таких патологій, що може ускладнювати перебіг ГП, є синдром гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) – підвищений вміст в крові амінокислоти

гомоцистеїну (ГЦ). В Україні синдром ГГЦ виявляється у 10% здорових дорослих осіб, 13-43 % хворих з артеріальною гіпертензією та ішемічною хворобою серця та у 55 % хворих з ішемічними інсультами [19, 20]. Клінічні дослідження встановили, що ГГЦ пов'язана не лише із підвищеним ризиком виникнення серцево-судинних захворювань [21-23], але й асоціюється з ускладненнями вагітності, остеопорозом, захворюваннями центральної нервової системи, неалкогольною жировою хворобою печінки, еректильною дисфункцією [24-28]. У той же час, механізми ушкодження органів і тканин за умови ГГЦ залишаються нез'ясованими [29], а дані щодо взаємозв'язку підвищеного рівня ГЦ в крові та патології ротової порожнини загалом і ГП, зокрема, є обмеженими та суперечливими [30-37]. Таким чином дослідження спрямовані на порівняльне вивчення особливостей патогенезу ГП без супутньої патології і на тлі хронічної ГГЦ є актуальними та перспективними щодо поглиблення розуміння молекулярних механізмів формування ГГЦ-асоційованої патології з одного боку, а з іншого – дозволять розкрити нові патогенетичні ланки коморбідного перебігу пародонтиту та будуть важливим кроком до пошуку нових методів патогенетичної терапії даної когорти пацієнтів.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація є складовою частиною комплексної науково-дослідної роботи кафедри ортопедичної стоматології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України «Мультидисциплінарний підхід до вивчення патогенезу та лікування основних стоматологічних захворювань на основі вивчення механізмів пошкодження тканин порожнини рота на тлі супутньої соматичної патології» (№ держреєстрації 0119U002431). Автор вивчав особливості впливу ендотоксину грамнегативної мікрофлори ліпополісахариду на тканини пародонта на тлі хронічної ГГЦ, що викладено в матеріалах дисертації.

**Мета дослідження.** Встановити роль хронічної гіпергомоцистеїнемії у механізмах ураження тканин пародонта ендотоксином грамнегативної мікрофлори ліпополісахаридом.

**Завдання дослідження:**

1. Дослідити тяжкість запального процесу та встановити патогенетичну роль цитокінового дисбалансу у механізмах ураження тканин пародонта щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної ГГЦ.

2. Вивчити роль активізації реакцій вільнорадикального окиснення та ендогенної інтоксикації у патогенезі ЛПС-індукованого пародонтиту у щурів з хронічною ГГЦ.

3. Встановити ступінь порушення енергозабезпечення нейтрофілів крові, особливості їх функціональної і метаболічної активності та реалізації програмованої загибелі у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної ГГЦ.

4. Оцінити роль порушень кісткового метаболізму та метаболізму сполучної тканини у патогенезі ураження пародонта ендотоксином грамнегативної мікрофлори ліпополісахаридом у щурів з хронічною ГГЦ.

5. З'ясувати характер взаємозв'язків між рівнем ГЦ в сироватці крові та ступенем тяжкості запальних і деструктивних процесів у пародонті (показниками інтенсивності метаболізму кісткової і сполучної тканин, оксидативного стресу, апоптозу/некрозу та цитокінового дисбалансу) у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної ГГЦ.

*Об'єкт дослідження:* експериментальний ЛПС-індукований пародонтит, що розвивається на тлі хронічної ГГЦ.

*Предмет дослідження:* показники метаболізму кісткової та сполучної тканин, цитокіновий профіль, протеїни гострої фази запалення, функціональна та метаболічна активність нейтрофілів, вільнорадикальне окиснення, антиоксидантний захист, ендогенна інтоксикація, енергозабезпечувальне окиснення та шляхи реалізації програмованої загибелі нейтрофілів крові за



умови експериментального ЛПС-індукованого пародонтиту на тлі хронічної ГГЦ.

*Методи дослідження:* експериментальні – для моделювання ЛПС-індукованого пародонтиту та хронічної ГГЦ; біохімічні – для дослідження показників кісткового метаболізму, метаболізму сполучної тканини, оцінки пероксидації ліпідів та протеїнів, функціонування системи антиоксидантного захисту, ендогенної інтоксикації, енергозабезпечувального окиснення; імуноферментні – для оцінки цитокінового профілю, С-реактивного протеїну; цитологічні – для визначення функціональної та метаболічної активності нейтрофілів крові; цитофлуориметричні – для дослідження генерації активних форм кисню, мітохондріального трансмембранного потенціалу, апоптозу/некрозу нейтрофілів крові; математико-статистичні – для обробки результатів дослідження.

**Наукова новизна одержаних результатів.** У дисертаційній роботі вперше на підставі комплексних досліджень та оцінки порушень метаболізму кісткової та сполучної тканин, цитокіногенезу, вираженості запалення, функціональної і метаболічної активності нейтрофілів крові, енергозабезпечувального окиснення, реалізації програмованої загибелі нейтрофілів крові, пероксидного окиснення ліпідів і протеїнів, антиоксидантного захисту, вираженості ендогенної інтоксикації проведено порівняльне вивчення перебігу експериментального ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології та пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ.

Вперше встановлено взаємозв'язки між рівнем ГЦ в сироватці крові та ступенем тяжкості запальних і деструктивних процесів у тканинах пародонта як за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, так і за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ.

Вперше продемонстровано, що супутня хронічна ГГЦ вірогідно посилює синтез реактантів гострої фази запалення та цитокіновий дисбаланс, що відіграє

важливу роль в прогресуванні пародонтиту та запуску метаболічних каскадних реакцій.

Вперше показано, що супутня хронічна ГГЦ вірогідно посилює інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів в тканинах пародонта на тлі зниження функціональної активності антиоксидантного захисту, що супроводжується зростанням ендогенної інтоксикації.

Вперше визначено, що супутня хронічна тіолактонова ГГЦ негативно впливає на функціональну та метаболічну активність нейтрофілів крові за умови ЛПС-індукованого пародонтиту, що підтверджується порушенням процесу фагоцитозу, більш вираженим зменшенням поглинаючої здатності нейтрофілів крові та виснаженням резервів цих клітин відносно тварин без супутньої патології.

Вперше доведено, що супутня хронічна тіолактонова ГГЦ посилює ініціацію програмованої загибелі нейтрофілів крові за рахунок запуску мітохондріального шляху апоптотичної загибелі клітин.

Вперше показано, що супутня хронічна тіолактонова ГГЦ інтенсифікує деструкцію сполучної тканини за умови ЛПС-індукованого пародонтиту та пригнічує синтетичні процеси у кістковій тканині на тлі активації реакцій остеорезорбції.

**Практичне значення одержаних результатів.** Отримані дані розкривають нові аспекти патогенезу експериментального ЛПС-індукованого пародонтиту та поглиблюють існуючі уявлення про можливі молекулярні механізми впливу підвищених рівнів ГЦ за умови хронічної ГГЦ на перебіг запального процесу у тканинах пародонта, що відкриває можливості для вдосконалення патогенетичної терапії такої поєднаної патології.

Основні положення дисертаційної роботи можуть бути використані у навчальному процесі при викладанні патологічної фізіології, клінічної патофізіології, терапевтичної стоматології студентам медичних навчальних

закладів, а також у роботі науково-дослідних лабораторій за даною проблематикою.

Результати роботи впроваджено в наукові дослідження та навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології, терапевтичної стоматології, ортопедичної стоматології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України; на кафедрі патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету; на кафедрі патологічної фізіології, терапевтичної стоматології Буковинського державного медичного університету.

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно проведено критичний аналіз даних наукової літератури, обґрунтовано актуальність дослідження, визначено мету і завдання, сформовано групи тварин для дослідження. Автор опанував методики досліджень і виконав експерименти, здійснив статистичну обробку отриманих результатів та написав розділи дисертаційної роботи. Разом із науковим керівником дисертант узгодив основні наукові положення, аналіз і узагальнення отриманих результатів та сформулював висновки. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, автору належать виконання експериментальних досліджень, статистична обробка, узагальнення отриманих даних, підготовка матеріалів до друку. У всіх наукових працях, що містять результати досліджень, використано фактичний матеріал, отриманий автором у процесі виконання роботи.

**Апробація результатів дисертації.** Результати досліджень, включені до дисертації, оприлюднено на науково-практичних конференціях та конгресах: підсумковій LXIV науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (м. Тернопіль, 11 червня 2021 р.); the 1<sup>st</sup> International scientific and practical conference «Topical issues of modern science, society and education» (Kharkiv, 8-10 August 2021); міжнародній науково-практичній конференції «Пріоритетні напрями вирішення актуальних проблем медицини» (м. Дніпро, 10–11 вересня 2021 року); всеукраїнській

міждисциплінарній науково-практичній конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)», присвяченій 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава, 8 жовтня 2021 р.); 6-му Національному Українському стоматологічному конгресі «Інноваційні технології в стоматології» (м. Київ, 22–23 жовтня 2021 р.); 3<sup>rd</sup> International Conference on Medical and Health Sciences (Bingol, Turkey, December 24-25, 2021).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових робіт, з них 3 статті у фахових виданнях України, рекомендованих для публікування матеріалів дисертаційних робіт, 5 – у зарубіжних виданнях, включених у науково-метричну базу Scopus, 6 тез у збірниках матеріалів наукових конференцій.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена на 242 сторінках комп'ютерного тексту і складається із вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел, який налічує 342 найменування (133 – кирилицею і 209 – латиницею), додатків. Роботу проілюстровано 32 рисунками та 50 таблицями. Список використаних джерел та додатки викладено на 50 сторінках.

## РОЗДІЛ 1

### МЕТАБОЛІЗМ ГОМОЦИСТЕЇНУ І ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ ТА ЇХ РОЛЬ У РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЇ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

#### 1.1 Характеристика сірковмісних амінокислот і метаболізм гомоцистеїну та гідроген сульфїду

Інтерес до обміну сірковмісних амінокислот визначається участю SH-груп у регуляції внутрішньоклітинного обміну, забезпеченні процесів життєдіяльності клітини, процесів метилування, підтриманні редокс-потенціалу клітини, регуляції проникності мембран, формуванні нативної структури протеїну, синтезі креатиніну, глутатіону й інших біологічно активних сполук. Метіонін, цистеїн, гомоцистеїн (ГЦ) і таурин є найбільш розповсюдженими сірковмісними амінокислотами [38–42].

До складу протеїнів людини входять лише дві амінокислоти, що містять сірку, – метіонін і цистеїн, які метаболічно тісно пов'язані між собою (рис. 1.1).

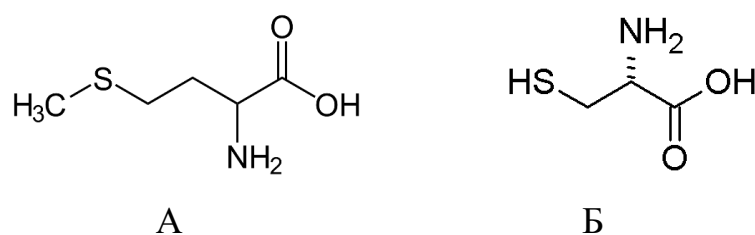


Рисунок 1.1 – Формули метіоніну (А) і цистеїну (Б)

Метіонін – незамінна глікогенна амінокислота, що бере участь у реакціях дезамінування та є джерелом атома сірки для синтезу цистеїну. Метильна група метіоніну – мобільний одновуглецевий фрагмент, який використовується для синтезу ряду сполук (фосфатидилхоліну, катехоламінів, карнозину); крім того, метіонін-тРНК бере участь в ініціації процесів трансляції та може впливати на

регуляцію метаболічних процесів в організмі, що динамічно змінюються під дією гіпоксії [43, 44].

Другою сірковмісною амінокислотою, що входить до складу протеїнів людини, є цистеїн. Цистеїн – умовно незамінна амінокислота, оскільки для її синтезу необхідний атом сірки, джерелом якого слугує незамінна амінокислота метіонін. Отже, для синтезу цистеїну потрібні дві амінокислоти: серин – джерело вуглецевого скелета з аміногрупою і метіонін – первинне джерело атома сірки. Цистеїн, як й інші амінокислоти, використовується для синтезу протеїнів, є попередником синтезу глутатіону, гіпотаурину, таурину, неорганічного сульфату і гідроген сульфід (H<sub>2</sub>S). Його сульфгідрильна група є реакційною групою коензиму А, який необхідний для численних реакцій ацилювання. Цистеїн також задіяний у багатьох реакціях відновлення [44–46].

Проте саме ГЦ, який є проміжним продуктом метаболізму метіоніну та цистеїну, перебуває в центрі уваги багатьох дослідників [47]. Гомоцистеїн – гомолог цистеїну, і відрізняється він від нього наявністю додаткової метиленової групи (-CH<sub>2</sub>-). Термін «гомоцистеїн» уперше використали Du Vigneaud та співавтори понад 85 років тому, коли відкрили цю сполуку і переконливо довели, що вона має структуру тіолу 4-вуглецевої α-амінокислоти: HSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(NH<sub>2</sub>)COOH [48].

Хоча ГЦ безпосередньо не задіяний у синтезі протеїнів, його роль у метаболізмі фолієвої кислоти і катаболізмі холіну є фундаментальною в регуляції метаболізму метіоніну [49]. Підтримка на постійному рівні вмісту метіоніну, необхідного для реакцій метилування, а також для синтезу цистеїну, є основною біологічною роллю гомоцистеїну. Крім того, ГЦ бере участь у реакціях синтезу α-кетобутирату, попередника сукциніл-КоА – інтермедіата циклу Кребса [40, 50].

ГЦ утворюється шляхом біохімічного синтезу в результаті деметилування метіоніну і проходить три послідовні стадії [47]. На першій стадії АТФ-L-метіонін S-аденозилтрансфераза, використовуючи аденозинтрифосфат (АТФ),

переносить аденозил до метіоніну, що зумовлює формування S-аденозил-L-метіоніну (SAM). Він є донором метильних груп у більшості метилтрансферазних реакцій, таких, як метилування ДНК, РНК, протеїнів, ліпідів, бере участь у синтезі креатиніну в печінці, мембранного фосфатидилхоліну, нейротрансмітерів, у тому числі катехоламінів [51].

На другій стадії універсальний донор метильних груп SAM бере участь у реакції трансметилування з декількома акцепторами метильних груп [47], а після передачі метильної групи перетворюється в S-аденозилгомоцистеїн (SAH) в активному центрі ензиму метилтрансферази (EC 2.1.1).

Оскільки більшість метилтрансфераз зв'язується із SAH з більшою афінністю, ніж із SAM, то SAH є інгібітором цього ензиму [52]. Таким чином, ефективність дії метилтрансферази залежить від швидкого видалення продукту реакції, що перебігає за рахунок SAH-гідролази (EC 3.3.1.1), яка перебуває в безпосередній близькості від метилтрансферази [53]. Нещодавно з'явилися дані про кристалічну структуру SAH-гідролази. Цікаво, що молекула цього поліпептиду має таку ж третинну структуру, як і ДНК-метилтрансфераза. Імовірно, саме тому SAH може легко переміщатися між каталітичними центрами двох ензимів [54]. Подібність у сайті зв'язування субстрату також відіграє важливу роль у регуляції метилтрансферазної активності при підвищенні вмісту SAH [53].

На третій стадії утворена сполука SAH, в якій відсутня метильна група, далі розщеплюється на ГЦ і аденозин за допомогою S-аденозилгомоцистеїн-гідролази. Важливо відзначити, що ця реакція є зворотною і рівновагу зміщено на користь утворення SAH, а не ГЦ. Єдиною причиною перебігу цієї реакції в гідролітичному напрямку є ефективність видалення її продуктів [52]. Таким чином, метаболічні зміни, які заважають ефективному видаленню ГЦ і аденозину, зумовлюють зміщення рівноваги в бік утворення SAH та підвищення його вмісту.

Отриманий ГЦ може метаболізуватися двома шляхами – транссульфуванням і реметилюванням (рис. 1.2). У результаті транссульфування він перетворюється в цистеїн шляхом конденсації із серином з утворенням проміжного продукту цистатіоніну, який, у свою чергу, розщеплюється на цистеїн та  $\alpha$ -оксибутират. Реакцію конденсації каталізує ензим цистатіонін- $\beta$ -синтаза, що потребує вітаміну  $B_6$  як кофактора. Каталіз здійснює ензим  $\gamma$ -цистатіоназа [47].

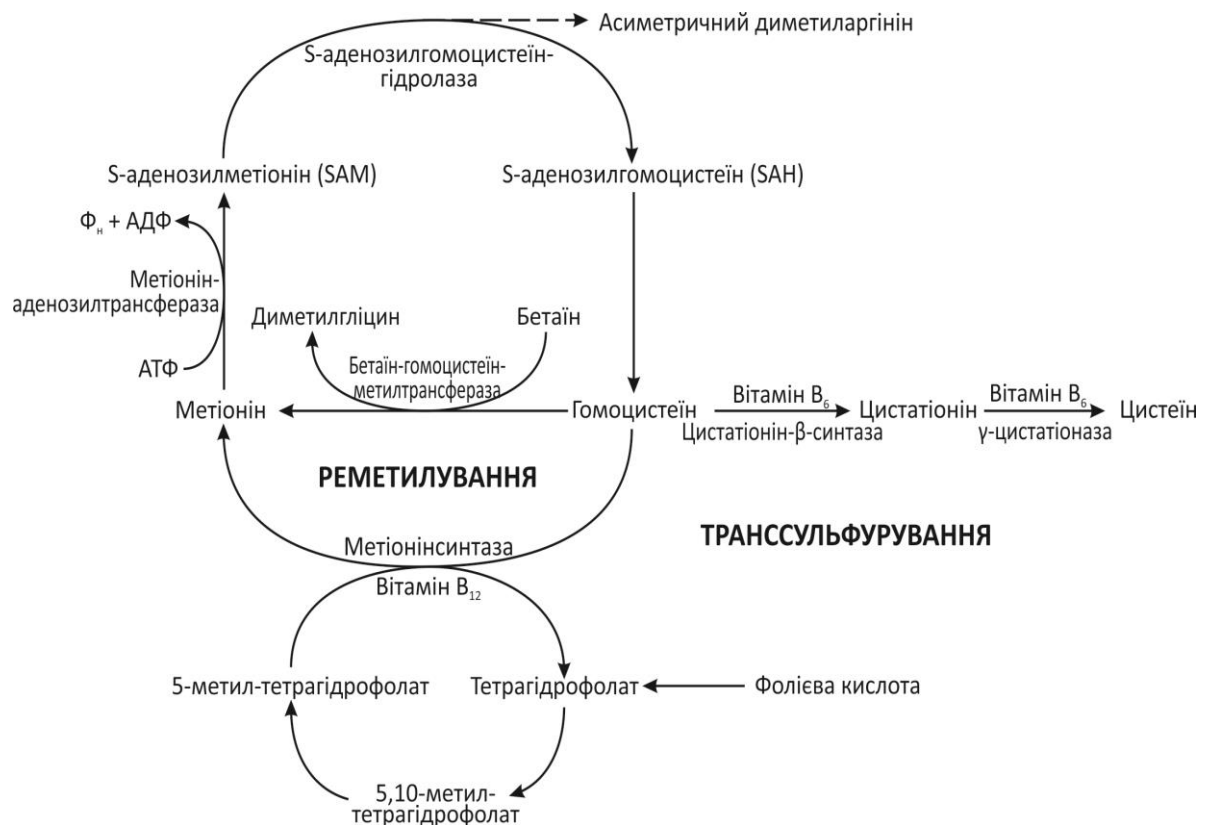


Рисунок 1.2 – Метаболізм гомоцистеїну – реметилювання і транссульфування [47, 53]

Альтернативно ензим метіонінсинтаза (MTR), використовуючи вітамін  $B_{12}$  як кофактор, каталізує реакцію повторного метилювання, відновлюючи метіонін шляхом перенесення метильної групи з 5-*N*-метил-тетрагідрофолату на ГЦ [47, 55]. 5-*N*-метил-тетрагідрофолат є основним джерелом метильних груп для повторного метилювання ГЦ, хоча, залежно від органа людини, бетаїн, завдяки ензиму бетаїн-гомоцистеїн-метилтрансферазі,



також може діяти як донор метильних груп. Цей шлях здебільшого локалізований у печінці та нирках, де бетаїн-гомоцистеїн-метилтрансфераза експресується і бетаїн є проміжним метаболітом окиснення холіну [47, 56]. Водночас встановлено, що деякі нейротрофічні чинники, зокрема нейрегулін-1 $\beta$ , можуть стимулювати вилучення ГЦ з метіонінового циклу за рахунок підвищення активності метіонінсинтази й утворення глутатіону [57].

Утворений в організмі ГЦ може самоокиснюватися з утворенням гомоцистеїнової кислоти, що супроводжується накопиченням у клітинах гідроген пероксиду. Самоокиснення ГЦ перебігає за наявності металів змінної валентності [19, 54].

ГЦ також може перетворюватися в ГЦ-тіолактон – токсичний метаболіт, що накопичується в позаклітинних рідинах (рис. 1.3).

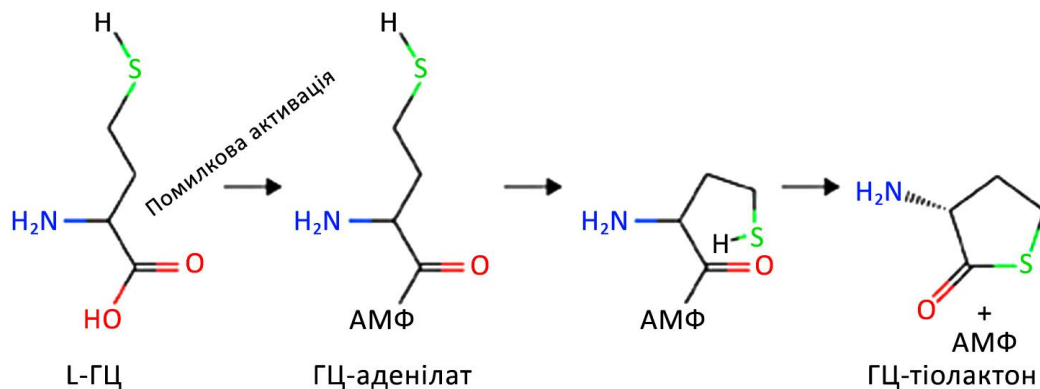


Рисунок 1.3 – Утворення ГЦ-тіолактону внаслідок помилкових взаємодій ГЦ з  $\text{tRNA}^{\text{мет}}$  [58]

У живих організмах утворення ГЦ-тіолактону є результатом помилкових взаємодій ГЦ із  $\text{tRNA}^{\text{мет}}$  ( $\text{tRNA}^{\text{лей}}$ ,  $\text{tRNA}^{\text{іле}}$ ) і утворення комплексу, який специфічно розпізнає відповідна аміноацил-тРНК-синтетаза, що бере участь у процесах трансляції. Специфічна тРНК-синтетаза усуває ушкодження: забезпечує конверсію ГЦ до тіолактону, що є доволі реакційноздатним і зумовлює гомоцистеїнування протеїнів (рис. 1.4), порушуючи їх нормальну третинну структуру і властивості шляхом утворення амідних зв'язків із залишками лізину [19, 58].

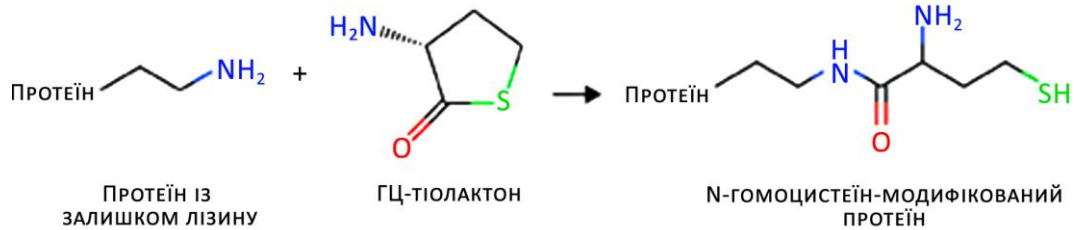


Рисунок 1.4 – N-гомоцистеїнування протеїнів під впливом гомоцистеїну тіолактону [58]

Шлях утворення ГЦ-тіолактону може стати домінантним, якщо реакції транссульфування чи реметилювання ГЦ не здійснюються у зв'язку з дефектами генів, які кодують ензими метаболізму метіоніну, з недостатнім споживанням фолатів, вітаміну В<sub>12</sub> або В<sub>6</sub>. Основними протеїнами, що піддаються N-гомоцистеїнуванню, є альбумін, гемоглобін та γ-глобулін. Серед інших мішеней – антитрипсин, трансферин, фібриноген, ліпопротеїни, цитохром С і гістони [59–61].

Гомоцистеїнування протеїнів істотно впливає на їх біологічну активність, у тому числі зумовлює підвищення чутливості до окиснення, здатності до олігомеризації і денатурації. Множинне гомоцистеїнування клітинних протеїнів може спричинити, в кінцевому результаті, апоптоз і загибель клітини [54, 62].

Варто зазначити, що в процесі обміну ГЦ утворюється біологічно активна молекула – гідроген сульфід (H<sub>2</sub>S), що виконує функції нейротрансмітера, цитопротектора й антиоксиданта [63, 64]. Гідроген сульфід як новий газотрансмітер відкрито в 1996 р., коли було показано його утворення у мозковій тканині за допомогою ензиму цистатіонін-β-синтази (CBS, EC 4.2.1.22) і припущено його можливу роль як нейромодулятора (сприяння індукції довгострокового потенціювання в гіпокампі щурів через підвищення активності N-метил-D-аспартатних рецепторів) [65, 66]. Сьогодні відомо, що H<sub>2</sub>S регулює широкий спектр фізіологічних процесів у серцево-судинній, нервовій, дихальній, травній, імунній та ендокринній системах, впливаючи на клітинні сигнальні шляхи і сульфгідратацію протеїнів-мішеней. Вплив H<sub>2</sub>S на

клітинний цикл і шляхи загибелі клітини асоціюється з пухлинним ростом, ангиогенезом та нейродегенеративними захворюваннями [67].

Ендогенний  $H_2S$  в організмі людини і тварин синтезується із сірковмісних амінокислот, перш за все L-цистеїну та його дисульфідної форми – цистину. Оскільки цистеїн може синтезуватись в організмі з метіоніну, то і синтез  $H_2S$  може починатись з нього [68]. У синтезі гідроген сульфідну беруть участь ензими CBS, цистатіонін- $\gamma$ -ліаза (CSE, EC 4.4.1.1), 3-меркаптопіруватсульфур-трансфераза (3-MST, EC 2.8.1.2) і цистеїнамінотрансфераза (CAT, EC 2.6.1.3) [69]. У процесі ензиматичного шляху CSE та CBS – цитозольні піридоксальзалежні ензими, що призводять до утворення гідроген сульфідну з використанням L-цистеїну і ГЦ як основних субстратів. 3-Меркаптопіруватсульфуртрансфераза як субстрат використовує 3-меркаптопіруват (3-MP), який генерується CAT з L-цистеїну та  $\alpha$ -кетоглутарату за наявності кофакторів тіоредоксину і дигідроліпоєвої кислоти [70, 71]. Більша частина 3-MST локалізується в мітохондріях, оскільки саме там концентрація L-цистеїну в 3 рази вища, ніж у цитоплазмі [70, 72].

Субстратом для синтезу  $H_2S$  може бути також і D-цистеїн. Синтез відбувається за допомогою ензиму D-аміноацидоксидази (DAO, EC 1.4.3.3) разом з 3-MST, переважно в нирках і мозочку, та є у 80 разів більш продуктивним, ніж синтез із L-цистеїну [72, 73].

D-цистеїн перетворюється в 3-MP за допомогою DAO, що розміщена в пероксисомах. Обмін метаболітів між пероксисомами та мітохондріями забезпечує імпорт 3-MP у мітохондрії, де в подальшому він піддається перетворенню в  $H_2S$  за допомогою ензиму 3-MST. На сьогодні вважають, що D-цистеїновий шлях синтезу  $H_2S$  можливий лише в нирках та головному мозку через виключне розміщення DAO саме в цих органах.

Також  $H_2S$  може синтезуватись шляхом відновлення тіосульфату з участю тіосульфатдитіолсульфід-трансферази (TST, EC 2.8.1.5) [74].

Гідроген сульфід зазнає численних перетворень в організмі людини,

зокрема зв'язується із SH-групами протеїнів та низькомолекулярних тіолів, модифікуючи їх активність, взаємодіє із сульфід-аніоном, утворюючи тіосульфат, або піддається метилуванню до метантиолу під впливом тіолметилтрансферази. Також  $H_2S$  може утворювати нітрозотіоли і неензиматично окиснюватись до сульфідів та сульфатів [74]. Незважаючи на те, що гідроген сульфід є сигнальною молекулою та зазнає численних перетворень в організмі людини, специфічних рецепторів для нього не знайдено. Молекулярними мішенями  $H_2S$  слугують різні іонні канали, рецептори, ензими і протеїни, які регулюють численні біохімічні та фізіологічні процеси. Ключовими механізмами сигналізації гідроген сульфід у  $S$ -сульфгідрування протеїнів та посттрансляційна модифікація з перетворенням  $-SH$ -груп у  $-SSH$ -групи, що значно збільшує реакційну здатність залишків цистеїну, зумовлюючи вищу функціональну активність молекулярних мішеней [75].

Цитопротекторні властивості  $H_2S$ , імовірно, полягають у його здатності нейтралізувати різні активні форми молекул. Гідроген сульфід відомий як перехоплювач вільних радикалів, що може безпосередньо реагувати і «гасити» супероксид аніон, пероксинітрит та інші активні форми кисню (АФО). При цьому значимість реакції  $H_2S$  з киснем не однозначна, оскільки продукт реакції сульфід може мати як токсичні, так і антиоксидантні властивості, що, мабуть, залежить від його концентрації [76].

Більше того, гідроген сульфід захищає клітини від оксидативного стресу за рахунок своєї здатності підвищувати рівень внутрішньоклітинного глутатіону. Вивільнення  $H_2S$  у позаклітинний простір викликає відновлення цистину до цистеїну, що призводить до зростання кількості цистеїну, доступного як субстрату для синтезу глутатіону, а також посилює активність цистин/глутаматного антипортера, тим самим збільшуючи транспорт цистину в клітини [72, 77, 78].

Крім того, цитопротекторна дія гідроген сульфід пов'язана з модуляцією функціонування внутрішньоклітинних каспаз або кіназ, активацією ядерного фактора  $\kappa B$  (NF- $\kappa B$ ) і  $\kappa B$ -залежних протеїнів (індуцибельна NO-синтаза,

циклооксигеназа-2, міжклітинна адгезивна молекула-1), а також зі зниженням антиапоптозичного фактора Bcl-2 [79, 80].

М. Greabu та співавт. зазначають, що  $H_2S$ , з одного боку, в низькій концентрації проявляє антиоксидантну та цитопротекторну дію, а з іншого – у вищій концентрації є цитотоксичним [81], зумовлюючи активацію вільнорадикальних процесів, мобілізацію кальцію, виснаження системи глутатіону, внутрішньоклітинне вивільнення заліза, а також індукцію шляхів мітохондріальної клітинної загибелі [79]. Тому важлива швидкість утилізації гідроген сульфід.

У катаболізмі гідроген сульфід задіяні три різні механізми: окиснення, метилування та поглинання металопротеїнами. Більшість  $H_2S$  виводиться нирками у формі сульфату [82, 83]. Окиснення – найбільш поширений механізм катаболізму гідроген сульфід, що відбувається в мітохондріях. У процесі утворення сульфату окиснений гідроген сульфід з'єднується з іншою молекулою  $H_2S$  без наявності ензимів, що призводить до утворення однієї молекули сульфату [84].

Гідроген сульфід також може піддаватись окисненню сульфідхінін оксидоредуктазою з утворенням персульфід, який, у свою чергу, роданеза каталізує у тіосульфат [82, 85]. Подальші перетворення тіосульфату в сульфати або сульфідиди відбуваються за наявності ензимів, що беруть участь у детоксикації сульфідидів, таких, як роданеза. Отриманий сульфід швидко окиснюється до сульфатів та виводиться із сечею. Однак слід відмітити, що визначення концентрації сульфату в сечі не є маркером рівня ендogenous  $H_2S$ , оскільки сульфати в сечі можуть з'являтися в результаті окиснення L-цистеїну.

На відміну від окиснення, метилування гідроген сульфід відбувається в цитоплазмі, а не в мітохондріях. У процесі метилування гідроген сульфід перетворюється в метантіол, що далі метилується в нетоксичний диметилсульфід за допомогою тіол-S-метилтрансферази [84].

Поглинання металопротеїнами включає зв'язування  $H_2S$  гемоглобіном чи міоглобіном з утворенням дисульфідних і металовмісних продуктів. Реакцію

взаємодії  $H_2S$  із гемоглобіном та міоглобіном, у результаті якої утворюються сульфурпохідні гемоглобіну, інтенсивно вивчали, і полягає вона у ковалентному приєднанні сульфідної групи до одного з пірольних циклів. Утворення сульфурпохідних гемоглобіну також спостерігали під час каталітичного циклу лактопероксидази і каталази [83].

## 1.2 Гіпергомоцистеїнемія як мультифакторний процес

Сукупність вищевказаних метаболічних процесів забезпечує те, що внутрішньоклітинний рівень ГЦ підтримується у вузьких межах. Підвищення рівня внутрішньоклітинного ГЦ, спричинене його посиленням продукуванням або зниженням метаболізму, призводить до відповідного зростання рівня ГЦ у крові. За фізіологічних умов лише близько 10 % від загальної добової продукції ГЦ, що не метаболізується всередині клітини, надходить у плазму крові, а рівень загального ГЦ у плазмі крові варіює від 3–5 до 15 мкмоль/л [47].

Варто вказати, що рівень загального ГЦ у плазмі крові протягом життя коливається. Так, до періоду статевого дозрівання вміст цього амінотіолу в хлопчиків та дівчаток приблизно однаковий і становить у середньому 5 мкмоль/л. У період статевого дозрівання вміст ГЦ зростає, причому в хлопчиків більшою мірою, ніж у дівчаток [86]. Рівень ГЦ та цистеїну в крові чоловіків також є вірогідно вищим порівняно з жінками [87–89]. У процесі старіння відмічають зростання рівня ГЦ в осіб обох статей, але вектор гендерних відмінностей поступово змінює свою направленість: у жінок у період менопаузи він стає достовірно вищим, ніж у чоловіків того ж віку [90]. Крім того, рівень ГЦ може змінюватися залежно від різних звичок, таких, як куріння сигарет, вживання алкоголю та малорухливий спосіб життя. Зниження рівня ГЦ у плазмі крові може бути пов'язане з вагітністю [47].

Плазма крові містить обидві форми ГЦ – відновлену й окиснену. Відновлена, або сульфгідрильна, форма (-SH) – це гідроген сульфід; окиснена,

або дисульфідна, форма (-S-S-) складається з ГЦ та змішаних дисульфідів. Змішані дисульфіди у плазмі крові утворюються за рахунок зв'язування ГЦ з іншими тіолами, тобто сполуками, що містять -SH групи; насамперед змішані дисульфіди є залишками ГЦ-цистеїну або протеїнами, які містять реактивні групи цистеїну [91].

Близько 80 % ГЦ зв'язуються з протеїнами плазми крові, в основному з альбуміном, утворюючи дисульфідний зв'язок із цистеїном у складі протеїну [54, 92]. У здорових осіб рівень вільного ГЦ (відновленого та у вигляді змішаного дисульфіду – цистеїнілгомоцистеїну і гомоцистину) становить приблизно від 2 до 3 мкмоль/л (20–30 % від рівня загального ГЦ). Лише невелика кількість (<0,3 мкмоль/л) вільного відновленого ГЦ може бути визначена в плазмі крові [91].

Порушення функції нирок може підвищувати рівень ГЦ у плазмі крові. Гідроген сульфід реабсорбується з клубочкового ультрафільтрату клітинами ниркових канальців. Його кліренс становить приблизно 1 % від рівня креатиніну. Таким чином, лише незначна частина ГЦ зазвичай виводиться через нирки. Оскільки клітини ниркових канальців можуть метаболізувати гідроген сульфід, порушення їх функції інгібує внутрішньоклітинний катаболізм ГЦ, підвищуючи тим самим його рівень у плазмі крові [91].

Гіпергомоцистеїнемію (ГГЦ) діагностують у разі перевищення рівня ГЦ у плазмі крові понад 15 мкмоль/л. За ступенем тяжкості її поділяють на помірну (вміст ГЦ у плазмі крові – 15–30 мкмоль/л), середнього ступеня тяжкості (вміст ГЦ у плазмі крові – 31–100 мкмоль/л) і тяжку (вміст ГЦ у плазмі крові – більше 100 мкмоль/л) [59].

Гіпергомоцистеїнемія є мультифакторним процесом, який охоплює багато тканин і органів, проте досі не з'ясовано, чи високий рівень ГЦ робить безпосередній внесок у патогенез захворювань, чи даний показник є лише біомаркером метаболічних аберацій, таких, як аберантний метаболізм метильних груп [93].

Як свідчать результати клінічних досліджень, ГГЦ пов'язана з підвищеним ризиком розвитку серцево-судинних захворювань (ішемічної хвороби серця, облітеруючого атеросклерозу артерій нижніх кінцівок, тромбозу артерій і вен, хронічної серцевої недостатності) й погіршує прогноз при цих патологіях [21, 94]. Крім того, встановлено, що збільшений рівень ГЦ у плазмі крові асоціюється з рядом захворювань, які прямо не пов'язані з ураженням серця і судин. Серед таких патологічних станів можна назвати ускладнення вагітності (пreeклампсію, низьку масу тіла при народженні, передчасні пологи, відшарування плаценти, дефекти нервової трубки плода), остеопороз та порушення мінерального метаболізму, захворювання центральної нервової системи (хворобу Альцгеймера, когнітивні порушення, судинну деменцію), неалкогольну жирову хворобу печінки [19, 93, 95–97].

Погляди на патогенетичні механізми виникнення і впливу на організм ГГЦ не однозначні. Результати експериментальних досліджень вказують на те, що основними мішенями для негативної дії високого рівня ГЦ є ендотеліальні, гладком'язові клітини судин, сполучна тканина, фактори коагуляції, ліпіди і молекули, які беруть участь у регуляції синтезу нітроген (II) оксиду (NO) [98].

Одним з механізмів несприятливого впливу ГГЦ є посилення оксидативного стресу, що призводить насамперед до ушкодження ендотелію з розвитком його дисфункції [50, 99, 100]. До проявів ендотеліальної дисфункції належать зниження як продукування NO (порушення функції ендотеліальної NO-синтази зумовлює утворення супероксид аніон радикала замість NO) [101, 102], так і біодоступності NO, підвищене утворення ендотеліну-1 [103], експресія молекул адгезії та хемокінів [104]. ГГЦ також може сприяти атерогенезу, опосередковуючи апоптотичну загибель ендотеліоцитів і клітин гладких м'язів [105]. Більше того, ГГЦ, ініціюючи активність моноцитів, Т-лімфоцитів, ендотеліоцитів, спричиняє розвиток хронічного запалення в місці атеросклеротичного ураження [106].



Результати додаткових досліджень з використанням ендотеліальних клітин людини вказують на те, що підвищений рівень АФО, стрес ендоплазматичного ретикулума й утворення ГЦ-тіолактону сприяють розвитку ГГЦ-індукованого апоптозу [107, 108]. Вплив ГГЦ на ендотеліальні клітини зумовлює збільшення експресії тканинного фактора, фактора V і активацію фактора XII [109], що призводить до гіперкоагуляції [110]. Крім того, дія високого рівня ГЦ посилюється за рахунок інактивації протеїну C і фактора згортання крові XIV, а також пригнічення фібринолітичного процесу [111].

Водночас ГЦ активує NF-κB – ядерний фактор транскрипції, що, як відомо, стимулює синтез цитокінів, хемокінів, молекул адгезії лейкоцитів, які, у свою чергу, посилюють міграцію лейкоцитів у стінку судини, тим самим збільшуючи цитотоксичність лейкоцитів [112, 113].

Д.В. Медведев та співавтори зазначають, що загалом негативний вплив ГГЦ можна пояснити з позиції трьох гіпотез: стресової (оксидативний стрес і стрес ендоплазматичного ретикулума); гіпотези молекулярних мішеней, яка базується на здатності ГЦ зв'язуватися з вільними залишками цистеїну або руйнувати дисульфідні зв'язки, змінюючи таким чином структуру та функції протеїнів; гіпотези, що ґрунтується на порушенні процесів метилування ДНК, РНК, протеїнів і т. ін. Імовірно, решта аспектів негативної дії ГГЦ (зниження впливу NO, пригнічення продукування простацикліну на тлі збільшення утворення тромбоксану A<sub>2</sub>, посилення синтезу жирних кислот, триацилгліцеролів і холестеролу, розвиток вторинної мітохондріальної дисфункції тощо) є наслідком трьох вищевказаних гіпотез [29].

Стає все більш очевидним, що порушення метилування ДНК та/або РНК можна розглядати як наслідок ГГЦ, спричиненої ендегенними (поліморфізми генів, які кодують ензими, що беруть участь у метаболізмі ГЦ і фолієвої кислоти) та/або екзогенними факторами (харчовий дефіцит фолієвої кислоти і вітамінів, підвищене споживання протеїнів, багатих на метіонін та цистеїн) [93]. Тому необхідні поглиблені дослідження, щоб зрозуміти епігенетичні зміни

профілів метилування ДНК та їх асоціації з ризиком розвитку та/або прогресування деяких захворювань.

### 1.3 Взаємозв'язок гомоцистеїну та гідроген сульфїду із захворюваннями ротової порожнини

Значенню ГЦ у розвитку патології ротової порожнини на сьогодні присвячено невелику кількість публікацій [114]. Високі його рівні у плазмі, сечі та вторинній слині, що викликають гіперсалівацію, наявні у хворих на рецидивний афтозний стоматит і симптоматичний атрофічний глосит, а також при синдромі палаючого рта (один із синонімів глосодинії) [115, 116]. Також про зв'язок метаболізму ГЦ і функціональних особливостей слизової оболонки ротової порожнини свідчать дані, наведені в роботах А.К. Siebert та співавторів [117]. Дослідники показали, що вітамін В<sub>12</sub>, доданий у зубну пасту, потрапляє в кровообіг і знижує рівень ГЦ у плазмі крові.

Крім того, відомо, що у хворих із плоскою формою лейкоплакії рівень ГЦ у плазмі крові перевищує норму, а введення в комплексну терапію фолатів ефективно впливає на регенеративний процес у слизовій оболонці ротової порожнини [118]. Наявні відомості про можливу роль ГГЦ у виникненні уроджених краніофациальних дефектів (щілин верхньої губи і твердого піднебіння) [119]. У пацієнтів із системним червоним вовчаком та хворобою Бехчета, в яких, як відомо, виникають патологічні зміни на слизовій оболонці ротової порожнини, реєструють також ГГЦ [120, 121].

Дуже важливими, але кількісно обмеженими є результати досліджень про генетичний ракурс ГГЦ та патології ротової порожнини, в тому числі про поліморфізм генів, які кодують ензими, що беруть участь у метаболізмі фолієвої кислоти і вітаміну В<sub>12</sub>. Ключову роль у синтезі метіоніну з ГЦ відіграє ензим 5,10-метилентетрагідрофолатредуктаза (МТНFR), що відновлює 5,10-метилентетрагідрофолат до 5-метилентетрагідрофолату, який несе на собі метильну групу для

реметилування метіоніну з ГЦ [92]. Ензим *MTHFR* кодується геном *MTHFR*, поліморфізм якого може впливати на активність ензиму *MTHFR* [122, 123].

Крім того, ензимами, які беруть участь у метаболізмі ГЦ та відіграють важливу роль в обміні фолієвої кислоти і вітаміну  $B_{12}$  є 5-метилтетрагідрофолат-гомоцистеїн метилтрансферазаредуктаза (*MTRR*) і 5-метилтетрагідрофолат-гомоцистеїн метилтрансфераза (*MTR*) [114, 124]. Цитоплазматичний ензим *MTR* є каталізатором реметилування ГЦ у метіонін з участю метилкобаламіну, похідного вітаміну  $B_{12}$ . Метилкобаламін відіграє роль проміжного переносника метильної групи при реметилуванні. У процесі цього перетворення відбувається окиснення кобаламіну й ензим *MTR* переходить у неактивний стан. Але функція ензиму відновлюється в процесі метилування з участю іншого ензиму – *MTRR*. Оскільки кобаламін є акцептором метильної групи 5-метилтетрагідрофолату, дефіцит вітаміну  $B_{12}$  спричиняє утворення «пастки для фолату». Нездатність регенерувати метіонін призводить до виснаження його запасу та викиду в кров ГЦ [92, 123].

W. Wang та співавтори досліджували потенційний зв'язок поліморфізму генів *MTR*, *MTRR* і *MTHFR* зі схильністю до несиндромної форми заячої губи із щілиною верхньої губи або без неї [125]. Дослідники встановили, що такі поліморфізми генів, як *MTR* A2756G, *MTRR* A66G та *MTHFR* C677T, асоціювалися з ризиком виникнення несиндромної форми заячої губи із щілиною верхньої губи або без неї ( $p < 0.05$ ). Результати логістичного регресійного аналізу показали, що *MTR* A2756G, *MTR* RA66G та *MTHFR* C667T можуть підвищувати ризик розвитку несиндромної форми заячої губи із щілиною верхньої губи або без неї. При цьому з'ясовано, що СА-гаплотип у гені *MTHFR* може слугувати захисним фактором щодо виникнення несиндромної форми заячої губи із щілиною верхньої губи або без неї, а ТА-гаплотип – фактором ризику розвитку вищевказаної патології.

Встановлено, що алельні зміни в гені *MTRR* тісно асоціюються з розвитком гострого початкового карієсу тимчасових зубів, а зміни в гені *MTR*

мають сумнівний взаємозв'язок із каріозним процесом [126]. Результати дослідження, яке провели L. Votto та Q. Yang, показали, що гомозиготний поліморфізм Т-алеля гена *MTHFR* пов'язаний із підвищеним ризиком виникнення щілини верхньої губи [127].

Перше дослідження про асоціацію ГЦ із пародонтитом з'явилося у 2004 р. [128], а у 2015 р. S. Bhardwaj та співавтори запропонували використовувати ГЦ як маркер вираження запалення у хворих на пародонтит [30]. Вони виявили, що рівень ГЦ в плазмі крові 20 пацієнтів з хронічним пародонтитом ( $(17,87 \pm 1,21)$  мкмоль/л) був вірогідно вищим від аналогічного показника осіб контрольної групи ( $(9,09 \pm 2,11)$  мкмоль/л), а після проведеного лікування рівень ГЦ в плазмі крові пацієнтів з хронічним пародонтитом виражено знизився ( $(11,34 \pm 1,87)$  мкмоль/л) і вірогідно не відрізнявся від даних осіб контрольної групи.

Подібні результати (підвищення вмісту ГЦ як у плазмі крові, так і в слині пацієнтів із запально-деструктивними захворюваннями пародонта) отримали й інші дослідники [31–33], особливо в осіб похилого і старечого віку (збільшення вмісту ГЦ у понад 2 рази від норми, що агресивно діє на тканини, знижуючи захисні властивості ротової порожнини, й ускладнює перебіг пародонтиту) [129].

На ймовірну асоціацію ГЦ та пародонтиту вказує і те, що запалення в тканинах пародонта відіграє активну роль у серцево-судинних захворюваннях: шляхом посилення системного запалення, що впливає на функцію ендотелію, чи судинної дисфункції, зумовленої бактеріємією та клітинним інфільтратом, вторинним відносно мікробіоти пародонта [130].

Підвищення вмісту ГЦ у плазмі крові 85 хворих на хронічний пародонтит відносно 91 особи з неураженим пародонтом також відзначали R. Joseph та співавтори ( $(19,22 \pm 8,27)$  мкмоль/л проти  $(10,27 \pm 2,50)$  мкмоль/л). При цьому не було виявлено вірогідних відмінностей у рівнях ГЦ у плазмі крові пацієнтів із хронічним пародонтитом середньої тяжкості й тяжким хронічним пародонтитом ( $p=0,722$ ) [131].

На прямий зв'язок ГГЦ із хронічним пародонтитом вказують і науковці, які стверджують, що консервативна терапія хронічного ГП (виключно або в поєднанні з терапією фолієвою кислотою), зменшуючи запальний процес у пародонті, супутньо призводить до зниження рівня ГЦ у плазмі крові, слині чи ротовій рідині [132].

J. Botelho та співавтори провели багатофакторний регресійний аналіз, досліджуючи зв'язок між рівнем ГЦ, площею запаленої поверхні (епітелію) пародонтальної кишені (PISA), площею поверхні кореня зуба, вкритої пародонтальним епітелієм (PESA), артеріальним тиском та віком пацієнтів з патологією пародонта [34]. Вони встановили вірогідні кореляції між рівнем ГЦ та артеріальним тиском, PISA, PESA і віком. Крім того, з'ясували, що PESA вірогідно корелював з рівнем ГЦ в обидвох моделях дослідження – первинній і адаптованій, а PISA – ні, це, ймовірно свідчить про те, що асоціація рівня ГЦ із пародонтитом базується більше на руйнуванні тканин пародонта (PESA), ніж на запаленні (PISA).

На противагу цьому, B.G. Navarro та співавт. у своєму дослідженні, яке включало 99 пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями і 50 здорових осіб, встановили, що рівень ГЦ у плазмі крові достовірно не корелював із ступенем тяжкості дентопародонтальної патології (карієс та/або пародонтит) [35]. Крім того, дослідники не виявили вірогідних відмінностей у рівнях ГЦ у плазмі крові пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями в поєднанні з дентопародонтальною патологією відносно пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями без дентопародонтальної патології.

Можливими механізмами підвищення рівня ГЦ у біологічних рідинах за умови хронічного пародонтиту є гіперпродукування прозапальних цитокінів, таких, як інтерлейкіни (IL) і фактор некрозу пухлин- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), у тканинах пародонта. Ці медіатори ініціюють запальний каскад, який потенційно може порушити гомеостаз метіоніну та ГЦ [30, 32].

З іншого боку, метаболічна дисрегуляція при ГП підвищує рівень

системного запалення, спричиняючи зниження вмісту вітамінів –  $V_6$ ,  $V_{12}$  та фолієвої кислоти, які є важливими кофакторами в метаболізмі ГЦ [36].

М.Ф. McCarty зазначає, що пародонтопатогенні бактерії здатні індукувати продукування IL-6 та інших прозапальних цитокінів, які можуть системно взаємодіяти з метаболізмом вітаміну  $V_6$ , стимулювати активність піридоксальфосфатази в гепатоцитах, тим самим знижуючи рівень піридоксальфосфату й активність цистатіонін- $\beta$ -синтази. Унаслідок вищевказаних процесів рівень ГЦ у плазмі крові зростає [133].

З іншого боку, підвищена імунна активація при ГП пов'язана з генерацією АФО та оксидативним стресом, що спричиняє перевантаження системи детоксикації і зниження у крові рівня тетрагідрофолату, який чутливий до окиснення і вітаміну  $V_{12}$ , що порушує обмін ГЦ та може зумовити зростання його рівня в плазмі крові [134].

Щодо дослідження перебігу експериментального пародонтиту на тлі ГГЦ, то в доступній літературі наявні лише поодинокі публікації. Так, О.М. Кривошеєва та співавтори встановили, що ГГЦ ускладнювала перебіг у щурів пародонтиту, змодельованого шляхом відшарування ясен скальпелем у поєднанні з ін'єкціями 10 % розчину етилового спирту з 0,25 % розчином новокаїну [37].

Імовірними механізмами негативного впливу ГГЦ на перебіг пародонтиту може бути активація оксидативного стресу, який першочергово зумовлює ушкодження ендотелію і розвиток ендотеліальної дисфункції [100, 135]. Водночас ГЦ активує NF- $\kappa$ B – ядерний фактор транскрипції, що, як відомо, стимулює синтез цитокінів, хемокінів, молекул адгезії лейкоцитів, які, у свою чергу, посилюють міграцію лейкоцитів у стінку судини, тим самим збільшуючи цитотоксичність лейкоцитів [136].

Одним із можливих шляхів розвитку оксидативного стресу на тлі ГГЦ є зниження активності антиоксидантних ензимів: глутатіонпероксидази [137], супероксиддисмутази і тіоредоксинредуктази [138]. Більше того, ГГЦ пригнічує

активність ензиму  $N^G, N^G$ -диметиларгінін диметиламіногідролази, що розщеплює асиметричний диметиларгінін, надлишок якого зумовлює порушення функціонування NO-синтаз і сприяє генерації великої кількості вільних радикалів [139, 140]. Також «автоокиснення» ГЦ з утворенням вільних радикалів (супероксид аніона та гідроген пероксиду) є одним із можливих механізмів ГЦ-опосередкованого оксидативного стресу [141, 142].

Щодо взаємозв'язку між гідроген сульфідом і стоматологічною патологією, то роль ендogenous  $H_2S$ , що утворюється у ротовій порожнині, є маловивченою та суперечливою. Наявні дані, що  $H_2S$  генерують продукти метаболізму сульфатредуючих бактерій ротової порожнини, які розкладають такі субстрати, як цистеїн, аргінін або триптофан [143]. Сульфатредуючі бактерії можуть отримувати енергію, окиснюючи органічні сполуки або молекулярний водень ( $H_2$ ), відновлюючи сульфат ( $SO_{2-4}$ ) до гідроген сульфиду. В певному сенсі ці організми «дихають» сульфатом, а не киснем, у формі анаеробного дихання [144]. Особливу цікавість серед гетерогенної групи сульфатредуючих бактерій викликають грамнегативні мезофільні бактерії, що належать до класу Deltaproteobacteria, типу Proteobacteria, включаючи три роди: Desulfovibrio, Desulfomicrobium та Desulfobacter [145]. Варто вказати, що частота виявлення цих бактерій є значно вищою при пародонтиті порівняно зі здоровими ділянками ротової порожнини [146].

P. Langendijk-Genevaux та співавтори встановили, що сульфатредуючі бактерії ротової порожнини асоціюються з різними клінічними категоріями пародонтиту, і серед пролікованих пацієнтів з пародонтитом, які перебували на підтримувальній терапії, поширеність сульфатредуючих бактерій була значно нижчою відносно непролікованих хворих на пародонтит [147].

Окрім сульфатредуючих бактерій, джерелом ендogenous  $H_2S$  у ротовій порожнині можуть бути  $H_2S$ -синтезувальні ензими. Так, є дані, що стовбурові клітини періодонтальної зв'язки людини експресують CSE та CBS. При цьому CBS, імовірно, – основне джерело ендogenous  $H_2S$  у пародонті [148].

J. Chun-Mei та співавтори за допомогою полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі й вестерн-блотингу досліджували рівень мРНК і рівень самих ензимів – CBS та CSE, відповідальних за продукування  $H_2S$  у біоптатах тканини ясен хворих, які перенесли хірургічне втручання на пародонті, включаючи пацієнтів з гінгівітом, хронічним пародонтитом середньої тяжкості, тяжким хронічним пародонтитом та осіб із здоровим пародонтом. Встановлено експресію як мРНК досліджуваних ензимів, так і самих ензимів у біоптатах тканини ясен та значне підвищення їх рівня у хворих на хронічний пародонтит середнього і тяжкого ступенів відносно осіб із здоровим пародонтом. При цьому в пацієнтів з гінгівітом відзначено вірогідне підвищення експресії мРНК та рівня лише одного ензиму в біоптатах тканини ясен – CBS. Однак істотної різниці у рівнях  $H_2S$  між досліджуваними групами пацієнтів не було встановлено [149].

Результати ряду досліджень вказують на те, що  $H_2S$  та інші леткі сполуки сірки спричиняють галітоз, що означає поганий запах з рота (синоніми галітозу – стоматодисодія, foeter oris, або foeter ex oris) [69, 150], а захисна система лактопероксидази ротової порожнини гальмує ріст мікроорганізмів і утворення ними летких сполук сірки [151]. Водночас леткі сполуки сірки, такі, як  $H_2S$ , меркаптан і тіоефір, стимулюють утворення прозапальних цитокінів і сприяють розвитку запалення при ендодонтичному лікуванні зубів [152]. Встановлено, що леткі сполуки сірки є токсичними навіть при низьких концентраціях, тому також можуть робити внесок в етіопатогенез як гінгівіту, так і пародонтиту [144]. Зокрема, деякі дослідники вказують на ймовірний токсичний вплив гідроген сульфід на епітеліальні клітини ротової порожнини. Гідроген сульфід може проявляти себе як інгібітор клітинної цитохромоксидази, а також володіти вторинним ефектом, руйнуючи дисульфідні зв'язки протеїнів, реагувати з ними та зв'язувати іони металів, що впливає на можливість гранулоцитів опсонізувати мікроорганізми і призводить до пригнічення імунної відповіді в пародонтальній кишені [145, 153].



С. Liao та Y. Hua встановили, що  $H_2S$  підвищує експресію остеопротегерину і ліганду рецептора активатора ядерного фактора  $\kappa B$  (RANKL) клітинами періодонтальної зв'язки людини, стимульованих силою натягу. Імовірно, це свідчить про залучення  $H_2S$  у процес ремоделювання періодонта, особливо при переміщенні зубів [154].

Результати деяких досліджень свідчать про те, що  $H_2S$  безпосередньо пов'язаний з ініціацією та прогресуванням захворювань пародонта: сполука інгібує процес проліферації кератиноцитів ротової порожнини [155], знижує синтез протеїну у фібробластах ротової порожнини та інгібує синтез колагену [156].

Крім того, продукування  $H_2S$  асоціюється з багатьма визнаними пародонтопатогенами, такими, як *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium spp.*, *Treponema denticola* тощо. Оскільки вищий рівень гідроген сульфідів було визначено в уражених ділянках пацієнтів з пародонтитом, A. Basic та співавтори припустили, що  $H_2S$ , імовірно, є маркером протеолітичної активності мікробної біоплівки [157] і також залучений у патогенез ГП.

M. Greabu та співавтори також вказують на *Fusobacterium spp.*, *Parvimonas micra*, *Tannerella forsythia* або *Filifactoralocis* як на бактеріальні штами, що продукують  $H_2S$  [81]. Зокрема, *Fusobacterium spp.* діє на субстрати, такі, як цистеїн [158], ГЦ [159] або відновлений глутатіон [160].

У метаболізм відновленого глутатіону залучені три ензими:  $\gamma$ -глутамілтрансфераза, цистеїнілгліциназа та L-цистеїн десульфідраза (цисталізін). Цисталізін каталізує утворення  $H_2S$  за наявності L-цистеїну [161].

L. Chu та співавт. вивчали метаболізм відновленого глутатіону в *Treponema denticola* [162]. Дослідники запропонували три етапи продукування бактеріального  $H_2S$ : 1) глутамат або глутамін і дипептид цистеїнілгліцин (Cys-Gly) утворюються в результаті перетворення відновленого глутатіону; 2) гліцин та L-цистеїн утворюються в результаті розпаду Cys-Gly; 3) піруват, аміак та  $H_2S$  є фінальними продуктами розпаду L-цистеїну.

Під час досліджень *in vitro* було встановлено, що обробка культур *Fusobacterium nucleatum* та *Porphyromonas endodontalis* стресовими гормонами адреналіном, норадреналіном і кортизолом гальмувала їх ріст, але посилювала продукування ними гідроген сульфід. Водночас стресові гормони не впливали на ріст *Prevotella intermedia* та *Porphyromonas gingivalis*, але підвищували генерацію  $H_2S$  першою з них [65].

Х.Р. Чі та співавтори встановили, що пародонтальний патоген *Porphyromonas gingivalis* продукує гідроген сульфід. При цьому рівень  $H_2S$  у ротовій порожнині позитивно корелював з індексом кровоточивості ясен, глибиною пародонтальних кишень та рентгенографічними даними щодо втрати кісткової тканини. Для з'ясування механізму цієї кореляції фібробласти ясен і клітини періодонтальної зв'язки (альвеолярного окістя) обробляли різними концентраціями донора  $H_2S$  – гідросульфиду натрію (NaHS) за наявності або відсутності *Porphyromonas gingivalis*. При цьому гідроген сульфід не лише підвищував дозо- і часозалежно експресію мРНК та протеїнів прозапальних цитокінів IL-6 і IL-8 у вищевказаних клітинах, але також посилював експресію цих же цитокінів, яку зумовлював ліпополісахарид (ЛПС) *Porphyromonas gingivalis* [163].

Цікавим є той факт, що з метою експериментальної терапії пародонтиту в щурів тваринам вводили донор  $H_2S$  – NaHS у трьох різних дозах (14, 28 і 70 мкмоль/кг), але позитивного ефекту не отримали (втрата альвеолярної кістки не відрізнялась від такої у нелікованих тварин) [164].

Інші дослідники встановили, що гідроген сульфід може збільшувати проникність епітелію ясен та індукувати апоптоз клітин у пародонті, включаючи епітеліальні клітини і фібробласти ясен, клітини періодонтальної зв'язки й остеобласти [155, 165–167].

Більш того, виявлено, що апоптоз під впливом  $H_2S$  реалізувався добре усталеними шляхами: внутрішнім (мітохондріальний шлях, при якому внутрішня мітохондріальна мембрана деполаризується з подальшим

вивільненням цитохрому С у цитозоль, утворенням апоптосоми та активацією каспази-9 і каспази-3) або зовнішнім (лігандопосередкований шлях). Внутрішній мітохондріальний шлях активувався в більшості досліджуваних типів клітин: оральних фібробластах, оральних кератиноцитах, оральних кератиноцитарних стовбурових клітинах та загальних кератиноцитарних стовбурових клітинах. Зовнішній шлях апоптозу реалізувався лише в остеобластах і клітинах, ізольованих з альвеолярної кістки [168].

На противагу дослідникам, які позиціонують безпосередню участь гідроген сульфїду в ініціації та прогресуванні захворювань пародонта, А. Basic і G. Dahlen у своєму дослідженні, що включало 43 особи з тяжким або помірної тяжкості ГП, не встановили вірогідної кореляції між рівнем  $H_2S$  та ступенем тяжкості пародонтиту або складом мікрофлори ротової порожнини [169]. Більше того, є дані, що ендогенний  $H_2S$ , навпаки, має пародонтопротекторну дію [65].

Е. Gugliandolo та співавтори порівнювали захисні ефекти кетопрофену і субстанції АТВ-352, похідного кетопрофену, що вивільняє  $H_2S$ , використовуючи ЛПС-індуковану модель пародонтиту в щурів. Через 14 год після внутрішньоясенної ін'єкції ЛПС дослідники спостерігали сильне ушкодження тканини, пов'язане з резорбцією кістки, а в тканині ясен і слизової оболонки – значну експресію NF- $\kappa$ B p65 та прозапального цитокіну, а також вищу експресію індукцибельної NO-синтази і циклооксигенази-2, активацію апоптотичного процесу. Лікування АТВ-352 в дозі 20 мг/кг сприяло зменшенню запального процесу, а також позитивно впливало на резорбцію кістки й ушкодження тканин [170].

### *Резюме*

Підсумовуючи вищенаведений огляд літератури, можна дійти висновку, що ГЦ є ключовим метаболітом життєвого циклу клітини, який потрібен для підтримання на постійному рівні вмісту метіоніну, необхідного для реакцій

метилування, а також для синтезу цистеїну – структурного компонента глутатіону. В процесі обміну ГЦ утворюється біологічно активна молекула –  $H_2S$ , що також регулює широкий спектр фізіологічних процесів, впливаючи на клітинні сигнальні шляхи і сульфгідратацію протеїнів-мішеней. Гіпергомоцистеїнемію діагностують у разі перевищення рівня ГЦ в плазмі крові понад 15 мкмоль/л. Основними мішенями для негативної дії високого рівня ГЦ є ендотеліальні, гладком'язові клітини судин, сполучна тканина, фактори коагуляції, ліпіди і молекули, які беруть участь у регуляції синтезу NO. Незважаючи на те, що гіпергомоцистеїнемія є мультифакторним процесом, в який залучено багато тканин і органів, дані щодо впливу збільшеного рівня ГЦ в крові на розвиток стоматологічної патології є обмеженими та суперечливими. Аналогічні суперечності існують і стосовно зв'язку гідроген сульфід з патологією ротової порожнини загалом та захворюваннями пародонта зокрема. Необхідними є подальші дослідження, щоб встановити точні механізми й умови, які змушують молекулу гідроген сульфід проявляти цитопротекторні/антиоксидантні або цитотоксичні властивості у ротовій порожнині. Тому порівняльне вивчення особливостей патогенезу пародонтиту без супутньої патології і на тлі хронічної гіпергомоцистеїнемії та встановлення взаємозв'язків між періодонтальними маркерами запалення і деструкції та рівнем ГЦ і  $H_2S$  в крові, з одного боку, поглиблять розуміння молекулярних механізмів формування патології, асоційованої з хронічною гіпергомоцистеїнемією, а з іншого – дозволять розкрити нові патогенетичні ланки коморбідного перебігу пародонтиту та будуть важливим кроком до пошуку нових методів патогенетичної терапії цієї когорти пацієнтів.

Результати розділу опубліковані у науковій праці автора [171].

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Робота виконана на базі Центральної науково-дослідної лабораторії (свідоцтво про атестацію № 001/18 від 26.09.2018 р.) та міжкафедральної навчально-дослідної лабораторії (свідоцтво про атестацію № 132/17 від 29.12.2017 р.) Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України.

#### 2.1 Характеристика експериментального дослідження

Дослідження проведені на 144 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях з масою 180–200 г. Тварин утримували в умовах віварію Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України на стандартному раціоні у відповідності до санітарно-гігієнічних норм.

Усі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили із дотриманням правил, передбачених Європейською комісією по нагляду за проведенням лабораторних та інших дослідів з участю експериментальних тварин різних видів [172], згідно з «Науково-практичними рекомендаціями із утримання лабораторних тварин та роботи з ними» [173].

Комісією з питань біоетики Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (протокол № 64 від 17.05.2021 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Усі піддослідні тварини були поділені на такі групи:

I – контрольна група (щури, яким внутрішньошлунково вводили розчин 1 % крохмалю 1 раз на добу) (n=12); II – тварини з ліпополісахарид-індукованим пародонтитом. Щурам цієї групи протягом 2-х тижнів через день вво-

дили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1мг/мл) ліпополісахариду (ЛПС) *E. Coli* («Sigma-Aldrich», США) (n=12) [174]; III – тварини з хронічною тіолактоновою гіпергомоцистеїнемією (ГГЦ) (n=12). Тіолактон гомоцистеїну вводили в дозі 100 мг/кг маси тіла внутрішньошлунково на 1 % розчині крохмалю один раз на добу протягом 42 діб [175]; IV – тварини з ліпополісахарид-індукованим пародонтитом на тлі ГГЦ (n=12). У тварин цієї групи викликали хронічну тіолактонову ГГЦ як описано вище. Починаючи з 29-ї доби після початку індукування ГГЦ тваринам протягом чотирнадцяти діб паралельно з тіолактоном гомоцистеїну вводили в тканини ясен ЛПС за вищеописаною схемою.

Евтаназію тварин здійснювали шляхом пункції серця за умов глибокого тіопентал-натрієвого знечуження на наступний день після останнього введення ЛПС (група II та IV), тіолактон гомоцистеїну (група III).

Загальний розподіл експериментальних тварин, використаних у дослідах представлено у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Загальний розподіл експериментальних тварин, використаних у дослідах

Група спостережень	Статевозрілі самці			Загальна кількість тварин
	Серія 1	Серія 2	Серія 3	
I – контрольна група	12	12	12	36
II – щури із ЛПС-індукованим пародонтитом	12	12	12	36
III – щури із хронічною тіолактоновою ГГЦ	12	12	12	36
IV – щури із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ	12	12	12	36
Разом:	48	48	48	144

У таблиці 2.2 представлено розподіл експериментальних тварин залежно від проведених методів дослідження по серіях.

Таблиця 2.2 – Розподіл тварин залежно від проведених методів дослідження по серіях

Показник	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
1	2	3	4	5
<i>I серія дослідів</i>				
Визначення вмісту гомоцистеїну в сироватці крові	12	12	12	12
Визначення вмісту гідроген сульфїду в сироватці крові	12	12	12	12
Визначення кількості клітин із підвищеною генерацією активних форм оксигену в популяції нейтрофілів крові	12	12	12	12
Визначення кількості клітин із зниженим мітохондріальним трансмембранним потенціалом в популяції нейтрофілів крові	12	12	12	12
Оцінка апоптозу/некрозу клітин в популяції нейтрофілів крові	12	12	12	12
Дослідження енергозабезпечувального окиснення (сукцинатдегідрогеназна та цитохромоксидазна активність) у мітохондріях нейтрофілів крові	12	12	12	12
Дослідження пероксидного окиснення ліпідів (вміст ТБК-активних продуктів, вміст гідропероксидів) у сироватці крові та гомогенаті пародонта	12	12	12	12
Дослідження окиснювальної модифікації протеїнів (ОМП/370, ОМП/430) в сироватці крові та гомогенаті пародонта	12	12	12	12
Дослідження показників кісткового метаболізму (лужна фосфатаза, кисла фосфатаза, мінералізуючий індекс) в сироватці крові та гомогенаті пародонта	12	12	12	12
<i>II серія дослідів</i>				
Визначення вмісту гомоцистеїну в сироватці крові	12	12	12	12
Визначення вмісту гідроген сульфїду в сироватці крові	12	12	12	12

Продовження таблиці 2.2

1	2	3	4	5
Дослідження функціональної та метаболічної активності нейтрофілів крові (визначення фагоцитарної активності, тест з нітросинім тетразолієм)	12	12	12	12
Оцінка рівня ендогенної інтоксикації (МСМ/254, МСМ/280) в сироватці крові та гомогенаті пародонта	12	12	12	12
Дослідження цитокінового профілю (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10, IL-1 $\beta$ /IL-10) та С-реактивного протеїну в сироватці крові та гомогенаті пародонта	12	12	12	12
Дослідження системи антиоксидантного захисту (супероксиддисмутазна активність, каталазна активність, церулоплазмін, ЗААС) у гемолізаті еритроцитів, сироватці крові та гомогенаті пародонта	12	12	12	12
<i>III серія дослідів</i>				
Визначення вмісту гомоцистеїну в сироватці крові	12	12	12	12
Визначення вмісту гідроген сульфїду в сироватці крові	12	12	12	12
Дослідження показників кальцій-фосфорного обміну (загальний кальцій, неорганічний фосфат) в сироватці крові	12	12	12	12
Дослідження показників метаболізму сполучної тканини (колагенолітична активність, вміст вільного оксипроліну, вміст глікозаміногліканів, вміст фукози, не зв'язаної з протеїнами, вміст сіалових кислот) в сироватці крові	12	12	12	12

Об'єктом дослідження були сироватка крові, гемолізат еритроцитів, популяція нейтрофілів крові, 10 % гомогенат пародонта.

Для приготування 10 % гомогенату зразки пародонта, відібрані зразу ж після евтаназії, охолоджували до температури 1-3 °С у фізіологічному розчині, підсушували фільтрувальним папером та гомогенізували у 0,05 М трис-НСІ буфері (рН 7,4) за допомогою магнітного гомогенізатора SilentCrusher S, (Heidolph, Germany). Співвідношення маси тканини до об'єму буферу становило 1:9. Одержаний гомогенат центрифугували при 1500 g впродовж 30 хв на



центрифузі з охолодженням Hermle Z 32 НК, використовуючи для досліджень надосадову рідину [176].

Для проведення дослідження в еритроцитах, цільну кров центрифугували при 3000 об/хв. 15 хвилин, сироватку відбирали, а еритроцити промивали 2 рази ізотонічним розчином NaCl. Гемолізат еритроцитів готували за методом Nishikimi N. та співавторів [177]: до 0,1 мл відмитих еритроцитів додавали 0,9 мл трис-HCl буфера 0,05 М (рН 7,4), 0,25 мл етилового спирту, 0,15 мл хлороформу. Після помішування скляною паличкою центрифугували на центрифuzі з охолодженням Hermle Z 32 НК 15 хв. при 1500 г. Для досліджень використовували надосадову рідину.

Популяцію нейтрофілів крові отримували за допомогою центрифугування на подвійному градієнті щільності 1,077 і 1,093 фіколу-верографіну [178].

Для виділення мітохондріальної фракції суспензію нейтрофілів крові ресуспендували з 5 об'ємами буферу, що містив 0,25 М сахарозу, 10 мМ фосфат калію, 1 мМ ЕДТА (рН 7,2). Суспензію клітин гомогенізували. Гомогенат центрифугували при 800 г протягом 10 хв. Осад центрифугували при 8000 г 10 хв на центрифuzі з охолодженням HERMLE Z 32 НК і ресуспендували з буфером без ЕДТА [179]. Отриману суспензію зберігали на льоді.

## 2.2 Дослідження показників метаболізму гомоцистеїну

### *Визначення вмісту загального гомоцистеїну*

Для підтвердження розвитку ГГЦ, а також для визначення рівня гомоцистеїну (ГЦ) у щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології у сироватці крові тварин визначали загальний вміст гомоцистеїну (ГЦ) імуноферментним методом з використанням набору фірми "Axis-Shield" (Велика Британія) відповідно до протоколу виробника на аналізаторі «Multiscan FC» (Thermo Scientific, Фінляндія). Вміст ГЦ виражали у мкмоль/л (табл. А.1, А.2, А.3 додатку А).

### *Визначення вмісту гідроген сульфїду*

Вміст гідроген сульфїду ( $H_2S$ ), як метаболїту ГЦ, у сироватці крові визначали за реакцією утворення тїонїну з використанням *N,N*-диметил-*n*-фенїлендіамїну [180] та виражали у мкмоль/л (табл. А.1, А.2, А.3 додатку А).

В пробїрку з 0,5 мл 1 % розчину ацетату цинка додавали 0,1 мл сироватки крові, 2,5 мл дистильованої води та перемїшували. Потїм додавали 0,5 мл 50 мМ водного розчину *N,N*-диметил-*n*-фенїлендіамїну гїдрохлориду, 0,4 мл 30 мМ розчину  $FeCl_3$  в 1,2М  $HCl$ . Інкубували 5 хвилин при кїмнатній температурі, пїсля чого додавали 1 мл 20% ТХО для осадження протеїнів. Центрифугували 10 хвилин при 3000 об/хв. Вимїрювали оптичну щїльнїсть надосадової рїдини при довжині хвилі 590 нм в кюветі на 1,0 см проти контролю на реактиви (в якому замїсть сироватки крові брали 0,1 мл розчину альбумїну з концентрацією 75 г/л). В якості стандартів використовували водні розчини натрію сульфїду ( $Na_2S \times 9H_2O$ ) з концентрацією 7,5-750 мкг/мл (31,2- 3120 мкмоль/л), які обробляли як дослїдні пробї.

Вміст  $H_2S$  (мкмоль/л) розраховували за вїдношенням оптичної щїльностї дослїдної пробї до оптичної щїльностї стандартної пробї за формулою:

$$C_{д} = (E_{д} / E_{ст}) \times C_{ст} \text{ (мкмоль/л)} \quad (2.1),$$

де  $C_{д}$  – вміст гідроген сульфїду в сироватці крові,

$E_{д}$  – оптична щїльнїсть дослїдної пробї,

$E_{ст}$  – оптична щїльнїсть стандартної пробї,

$C_{ст}$  – вміст натрію сульфїду в стандартній пробї.

### 2.3 Оцїнка тяжкостї запального процесу

Стан системного та мїсцевого запального процесу оцїнювали за параметрами  $TNF-\alpha$ ,  $IL-1\beta$ ,  $IL-4$  та  $IL-10$ . Вміст цитокїнів вивчали методом твердофазового їмуноферментного аналізу з використанням наборів реагентів “RayBio” виробництва “RayBiotech” (США) вїдповїдно до протоколу виробника

на аналізаторі «Multiscan FC» (Thermo Scietific, Фінляндія) та виражали у пг/мл (сироватка крові) або пг/мг (гомогенат пародонта).

Визначення вмісту С-реактивного протеїну, як реактанта гострої фази запалення проводили методом твердофазового імуноферментного аналізу з використанням наборів реагентів “RayBio” виробництва “RayBiotech” (США) відповідно до протоколу виробника на аналізаторі «Multiscan FC» (Thermo Scietific, Фінляндія) та виражали у мг/л (сироватка крові) або мг/кг (гомогенат пародонта).

## 2.4 Дослідження показників вільнорадикального окиснення

### *Визначення вмісту гідропероксидів ліпідів*

Вміст гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) у сироватці крові та гомогенаті пародонта визначали загальноприйнятим методом [181], що базується на осадженні протеїнів у біологічному матеріалі розчином ТХО та екстракції ліпідів етанолом з наступною взаємодією досліджуваних екстрактів з тіоціанатом амонію.

До 0,2 мл сироватки крові (супернатанту гомогенату пародонта) у центрифужній пробірці з добре фіксованим корком додавали 2,8 мл етанолу та 0,05 мл 50 %-го розчину ТХО і струшували протягом 5 хв. Утворений осад виділяли центрифугуванням протягом 10 хв при 3000 об/хв. Одержаний супернатант, який являє собою етанольний екстракт ліпідів використовували для подальшого визначення вмісту ГПЛ. Відбирали 1,5 мл супернатанту і до нього додавали 1,2 мл етанолу, 0,02 мл концентрованої НСІ, 0,03 мл 1 %-го розчину солі Мора в 3%-му розчині НСІ, струшували і через 30 с додавали 0,2 мл 20 %-го розчину тіоціанату амонію, після чого розвивалося малинове забарвлення. Вимірювання оптичної густини проводили на спектрофотометрі при  $\lambda=480$  нм протягом 10 хв після додавання тіоціанату амонію.

Вміст ГПЛ визначали за різницею між дослідним зразком і контролем, в

який замість сироватки крові (супернатанту гомогенату пародонта) додавали 0,2 мл бідистильованої води та виражали у величинах абсорбції при  $\lambda=480$  нм (ум.од.) на 1 мг протеїну. Кількість протеїну у кожному зразку визначали за методом Lowry О.Н. та співавторів [182].

#### *Визначення вмісту ТБК-активних продуктів*

Принцип методу ґрунтується на тому, що при високій температурі в кислому середовищі малоновий диальдегід реагує з тіобарбітуровою кислотою, утворюючи триметиновий комплекс (одна молекула МДА і 2 молекули ТБК) червоного кольору з максимумом поглинання при 535 нм [181]. Вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) у зразку виражали у мкмоль/л у сироватці крові та у мкмоль/кг у гомогенаті пародонта.

До 0,5 мл сироватки крові (супернатанту гомогенату пародонта) додавали 5 мл 20 % фосфорно-вольфрамової кислоти, пробірки закривали корками, вміст перемішували і залишали на холоді 15 хв. Охолоджену суміш центрифугували при  $t +4$  °С протягом 15 хв при 3000 об/хв. Надосадову рідину зливали, а до осаду додавали 2 мл  $H_2O$  і 1 мл 0,8 % ТБК. Перемішували, закривали корками та інкубували на водяній бані одну годину при 100 °С. Після цього охолоджували водопровідною водою та центрифугували 10 хв при 6000 об/хв. У центрифугаті вимірювали оптичну густину на спектрофотометрі при довжині хвилі 535 нм і 580 нм, щоб виключити поглинання зафарбованих комплексів ТБК-речовин неліпідної природи.

Вміст ТБК-активних продуктів розраховували за формулою:

$$C=0,21 + 26,5 \times \Delta D \quad (2.2),$$

де  $\Delta D$  – показник  $D_{535} - D_{580}$

#### *Визначення окиснювальної модифікації протеїнів*

У процесі окиснювальної модифікації протеїнів (ОМП) утворюються альдегідні й кетонні групи, які взаємодіють з 2,4-динітрофенілгідразиним з утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів, що мають характерний спектр

поглинання. Альдегідо- і кетоніонопохідні нейтрального характеру реєструють при 370 нм (ОМП<sub>370</sub>), а основного – 430 нм (ОМП<sub>430</sub>) [183].

Для дослідження використовували сироватку крові та гомогенат пародонта. Попереднє осадження нуклеїнових кислот здійснювали 1 % розчином стрептоміцину сульфатом. У центрифужні пробірки (обов'язково паралельні проби) вносили по 0,8 мл 0,85 % розчину NaCl, 0,2 мл досліджуваного матеріалу, 1 мл 2,4-динітрофенілгідразину з концентрацією 0,1 моль/л, розчиненого в HCl (C=2 моль/л), і 1 мл 10 % трихлороцтової кислоти (ТХО). У контрольні проби замість 2,4-динітрофенілгідразину додавали 1 мл HCl. Пробірки інкубували 1 год при 37 °С, а далі центрифугували 10 хв при 3000 об./хв. Одержаний осад промивали тричі 5 % розчином ТХО (по 5 мл), кожного разу старанно ресуспензуючи осад скляною паличкою. До отриманого осаду додавали 5 мл розчину сечовини з концентрацією 8 моль/л, витримували 5 хв на киплячій водяній бані до повного розчинення. Оптичну густину утворених динітрофенілгідразонів реєстрували на спектрофотометрі СФ-46 при 370 і 430 нм проти контролю.

Кількість протеїну у кожному зразку визначали за методом Lowry О.Н. та співавторів [182].

Вміст фенілгідразонів розраховували, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції ( $2,1 \times 10^4 \times M^{-1} \times cm^{-1}$ ) за формулою:

$$K = 10^3 \times E / 21 \times C, \quad (2.3)$$

де K – вміст фенілгідразонів, ммоль/г протеїну;

C – вміст протеїну в 0,2 мл досліджуваного матеріалу.

## 2.5 Дослідження функціонування антиоксидантної системи

### *Визначення супероксиддисмутазної активності*

Визначення супероксиддисмутазної активності проводилось у гемолізатах еритроцитів та гомогенаті пародонта за методикою Чеварі С. та

співавторів [184]. Принцип методу ґрунтується на здатності ензиму інгібувати відновлення нітротетразолію синього при наявності НАДН та феназинметасульфату. Виражали активність даного ензиму в умовних одиницях на 1 мг протеїну (ум. од./мг протеїну).

До 0,1 мл еритроцитів, попередньо гемолізованих і розведених у 10 разів 5 М трис-НСІ (рН 7,4) додавали 0,5 мл етанолу і 0,3 мл хлороформу. Перемішували і центрифугували 15 хв при 7-8 000 об/хв. Для подальшого дослідження відбирали надосадову рідину. Інкубаційна суміш містила 1 мкл ЕДТА, 1 мг желатину, 0,407 мМ нітросинього тетразолію, 1,8 мкМ феназинметасульфату, 0,1 мл 1 мМ НАДН. Супернатант гемолізату еритроцитів (гомогенату пародонта) додавали в інкубаційну суміш в об'ємі 0,1 мл, що викликає гальмування відновлення нітротетразолію синього. Загальний об'єм інкубаційної суміші доводили до 3 мл фосфатним буфером (0,15 М, рН 7,8). Контрольні проби містили ті ж самі компоненти, крім супернатанту, замість якого додавали адекватну кількість фосфатного буферу. Запускали реакцію додаванням 0,1 мл НАДН у дослідні та контрольні проби. Інкубацію здійснювали протягом 10 хв у темноті при кімнатній температурі. Оптичну густину дослідних і контрольних проб визначали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 540 нм.

Кількість протеїну у кожному зразку визначали за методом Lowry О.Н. та співавторів [182].

Активність СОД, виражену в умовних одиницях на 1 мг протеїну, визначали за формулою:

$$A_{\text{сод}} = \frac{KE - DE / KE \times 2}{c} \quad (2.4)$$

де  $A_{\text{сод}}$  – супероксиддисмутазна активність;

$c$  – кількість протеїну в пробі, мг;

KE – екстинкція контрольної проби;

DE – екстинкція дослідної проби.

### *Визначення каталазної активності*

Каталазну активність у супернатанті гемолізату еритроцитів та гомогенату пародонта визначали спектрофотометричним методом [185]. Принцип методу базується на здатності  $\text{H}_2\text{O}_2$  утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення пероксидних сполук молібдену залежить від кількості  $\text{H}_2\text{O}_2$  в розчині, тобто від активності каталази в пробі. Результати виражали у ммоль  $\text{H}_2\text{O}_2$  за 1 хвилину на 1 мг протеїну.

При визначенні каталазної активності реакцію в дослідній пробі запускали додаванням до 0,1 мл гомогенату/гемолізату (розведеним у відношенні 1:10) 2 мл 0,03 % розчину  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Контрольна проба містила 1 мл 4 % розчину молібдату амонію  $\text{Mo}(\text{NH}_4)_2$  та 2 мл 0,03 % мл  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 1 мл 0,25 н  $\text{H}_2\text{SO}_4$  та 0,1 мл гомогенату/лізату. Реакцію у дослідній пробі припиняли через 10 хв додаванням 1 мл 0,25 н  $\text{H}_2\text{SO}_4$  та 1 мл 4 % розчину  $\text{Mo}(\text{NH}_4)_2$ , приготованого на 0,025 н  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Проби центрифугували 10 хв при 10000 об/хв. Кількість утвореного забарвленого комплексу у холостій та дослідній пробах визначали фотометрично при довжині хвилі 410 нм проти води.

Кількість протеїну у кожному зразку визначали за методом Lowry О.Н. та співавторів [182].

Каталазну активність, виражену в ммоль/хв  $\times$  мг протеїну, визначали за формулою:

$$A = \frac{\Delta E \times V \times n}{\epsilon \times C \times t \times \alpha \times l}, \quad (2.5)$$

де  $\Delta E$  – значення екстинкцій холостої і дослідної проб відповідно;

$V$  – загальний об'єм суміші в кюветі, мл;

$n$  – розведення (100 разів);

$\epsilon$  – мілімолярний коефіцієнт екстинкції ( $22200 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , або  $22,2 \text{ cm}^2 / \text{мкмоль}$ );

$C$  – концентрація протеїну, мг/мл;

$t$  – час проведення реакції, 10 хв;

$\alpha$  – об'єм зразка, мл;

$l$  – довжина оптичного шляху, 1 см.

#### *Визначення вмісту церулоплазміну у сироватці крові по Равіну*

Визначення церулоплазміну базується на тому, що він є єдиним компонентом сироватки крові, який володіючи оксидазними властивостями каталізує окиснення деяких поліамінів, в тому числі п-фенілендіаміндигідрохлориду [186]. В результаті окиснення утворюються речовини фіолетово-синього кольору ступінь окиснення яких прямо пропорційний вмісту церулоплазміну.

Дослідженню піддавали сироватку крові без слідів гемолізу. В пробірки вносили по 0,1 мл сироватки. В контрольну пробірку додавали 1 мл 0,5 % розчину гідроксиламіну солянокислого з метою інактивації ензиму. У всі пробірки додавали по 8 мл 0,4 М розчину ацетатного буферу (рН=5,5) і по 1 мл п-фенілендіаміну дигідрохлориду. Пробірки закривали корками і витримували в термостаті при 37 °С 1 год. Потім у кожену пробірку, крім контролю, додавали по 1 мл гідроксиламіну солянокислого. Проби витримували 30 хв при 4°С і потім визначали їх оптичну щільність проти контролю на спектрофотометрі СФ-46 при 530 нм.

Розрахунок проводили за формулою:

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

де  $C$  – вміст церулоплазміну в мг/л сироватки;

$E$  – екстинкція проби,

#### *Визначення загальної антиоксидантної активності*

Принцип методу базується на визначенні ступеня інгібування аскорбат- і залізоіндукованого окиснення твін-80 до МДА [187]. До 2 мл 1 % розчину твін-80 додавали 0,2 мл 1мМ розчину сульфату заліза, 0,2 мл 10мМ розчину аскорбінової кислоти і 0,2 мл сироватки крові/ супернатанту гомогенату пародонта (у контролі – 0,2 мл дистильованої води). Через 48 годин інкубації



при температурі 40 °С додавали 1 мл 40 % розчину ТХО і через 60 хв центрифугували. Потім до 1 мл надосадової рідини додавали 2 мл 0,25 % тіобарбітурової кислоти та інкубували при температурі 100 °С 15 хв. Проби охолоджували та вимірювали оптичну щільність при довжині хвилі 535 нм.

Загальну антиоксидантну активність вираховували у відсотках за формулою:

$$\text{ЗААС} = (\text{Ек} - \text{Ед}) / \text{Ек} \times 100 \% \quad (2.7)$$

## 2.6 Оцінка рівня ендогенної інтоксикації

### *Визначення вмісту молекул середньої маси*

Визначення вмісту МСМ проводили згідно з методикою Ліфшиц Р.І. [188], у модифікації Креєва С. [189]. Із сироватки крові виділяли кислоторозчинну фракцію, яку отримували шляхом додавання до 0,2 мл сироватки 1,8 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти. Наступне центрифугування проводили при 3000 об./хв протягом 30 хв. Виділену фракцію в об'ємі 0,5 мл розводили дистильованою водою у співвідношенні 1:10 і визначали оптичну густину при довжині хвилі 254 нм (визначаються ланцюгові амінокислоти) та 280 нм (визначаються ароматичні амінокислоти) проти дистильованої води на спектрофотометрі СФ-46; результати виражали в умовних одиницях, чисельно рівних показникам екстинкції.

## 2.7 Дослідження функціональної та метаболічної активності нейтрофілів крові

### *Визначення фагоцитарної активності*

Принцип методу ґрунтується на тому, що у гранулах фагоцитів міститься набір неферментних катіонних протеїнів, лізоцим, мієлопероксидаза, за рахунок яких відбувається пригнічення активності фагоцитованих бактерій та їх

перетравлення [190]. В якості тест-системи використовували стандартні частинки латексу для фагоцитозу (10 % полістирольна суспензія) діаметром 1,5 мкм («Диаэм», Росія).

Клітинну суспензію нейтрофілів вносили у пробірку в кількості 0,1 мл та інкубували при температурі 37 °С протягом 60 хв з 0,1 мл латексної суспензії. Потім готували на предметних скельцях мазки, висушували, фіксували і фарбували 1 % розчином метиленової синьки. У кожному мазку підраховували 100 нейтрофілів.

В якості показників фагоцитозу визначали: фагоцитарну активність (ФА) за кількістю фагоцитуючих клітин зі 100 підрахованих (%); фагоцитарний індекс (ФІ) за кількістю фагоцитованих частинок латексу, які захоплені однією клітиною, даний показник характеризує поглинаючу здатність фагоцитів; фагоцитарне число (ФЧ) (кількість фагоцитованих частинок латексу на 100 підрахованих клітин).

Вираховували фагоцитарне число (ФЧ) і фагоцитарний індекс (ФІ) за формулами:  $ФІ = \frac{\text{к-сть фагоцитованих частинок латексу}}{ФА}$ ;  $ФЧ = \frac{\text{к-сть фагоцитованих частинок латексу}}{100}$ .

#### *Тест з нітросинім тетразолієм (НСТ-тест)*

Тест з нітросинім тетразолієм (НСТ) базується на здатності відновлення поглиненого 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 НАДФ-Н-оксидазній реакції. Цей тест відображає ступінь активації оксиген-залежного механізму бактерицидної активності фагоцитуючих клітин [190, 191]. Розрізняють два варіанти НСТ-тесту: спонтанний та активований. При постановці спонтанного НСТ-тесту фагоцити культивуються в присутності нітросинього тетразолію без попередньої активації клітин, при проведенні індукованого НСТ-тесту до середовища культивування додають активатор фагоцитарної реакції.

У спонтанному НСТ-тесті клітинну суспензію нейтрофілів 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. В активованому НСТ-тесті клітинну суспензію нейтрофілів 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 латексної суспензії.

Реакцію оцінювали шляхом підрахунку 100 нейтрофілів на 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  $\frac{1}{4}$  частини цитоплазми) у спонтанному тесті та в активованому.

Для характеристики резервних можливостей оксиген-залежного метаболізму визначали показник резерву (ПР) і коефіцієнт метаболічної активації (К) за формулами:

$$\text{ПР} = \text{АВ} / \text{СВ}; \quad (2.8)$$

$$\text{К} = \text{АВ} - \text{СВ} / \text{АВ}, \quad (2.9),$$

де АВ – % диформазанпозитивних клітин в активованому тесті;

СВ – % диформазанпозитивних клітин у спонтанному тесті.

## 2.8 Оцінка продукції активних форм оксигену нейтрофілами крові

Генерацію активних форм оксигену (АФО) у популяції нейтрофілів крові визначали за допомогою барвника із заблокованою флюоресценцією – дигідродихлорфлюоресцеїну діацетату (ДХФ-ДА) («Sigma Aldrich», USA)

методом проточної лазерної цитофлуориметрії [192]. ДХФ-ДА – це неполярна сполука, яка пасивно проникаючи в клітину, гідролізується естеразами (відщеплюються ацетатні групи) – і перетворюється в полярну сполуку, нездатну дифундувати назад з клітини – 2,7-дигідродихлорфлюоресцеїн. В присутності внутрішньоклітинних АФО, головним чином після реакції з гідроген пероксидом, який утворюється під час респіраторного «вибуху», 2,7-дигідродихлорфлюоресцеїн окиснюється до 2,7-дихлорфлюоресцеїну, який є флуоресціюючою сполукою в ділянці зеленого спектру.

До 90 мкл клітинної суспензії ( $2 \times 10^6$  клітин в 1 мл) додавали 10 мкл робочого розчину ДХФ-ДА, інкубували 20 хв при температурі 37°C. В пробу вносили 11 мкл 0,2 % розчину ЕДТА та інкубували 30 хв при температурі 37 °C, потім центрифугували 1 хв при 1 500 об. і видаляли супернатант. Реакцію зупиняли 200 мкл лізуючого розчину (0,826 г  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 0,1 г  $\text{NaHCO}_3$ , 3,7 мг ЕДТА-Na на 100 мл дистильованої води), після чого клітини однократно відмивали і ресуспендували в 400 мкл фосфатно-сольового буферу (pH =7,4).

Аналіз зразків клітин проводився на проточному цитометрі Epics XL («Beckman Coulter», США) з допомогою гістограм та відповідних їм вікон статистики, що містили показники середньої геометричної інтенсивності світіння мічених клітин. Значення досліджуваного параметра виражали у відсотках (співвідношення числа нейтрофілів крові із підвищеним внутрішньоклітинним вмістом АФО (АФО<sup>+</sup>-клітини) до загальної кількості нейтрофілів крові).

## 2.9 Оцінка зміни мітохондріального трансмембранного потенціалу нейтрофілів крові

Рівень мітохондріального трансмембранного потенціалу ( $\Delta\Psi_m$ ) нейтрофілів крові визначали методом проточної цитофлуориметрії [193] з допомогою набору реактивів «MitoScreen» («BD Pharmigen», США), ключовим

реагентом якого є флюорохром 5,5',6,6'-тетрахлоро-1,1',3,3' тетраетилбензімідазоліл карбоціаніну йодид (JC-1). Відомо, що флюорохром JC-1 існує в двох різних станах – агрегатах і мономерах. JC-1 – мономер швидко проникає через мітохондріальну мембрану живої клітини, в результаті чого всередині мітохондрії формуються JC-1 – агрегати, що характеризуються червоним спектром світіння ( $\lambda=590$  нм), що може бути виміряно на FL-2 каналі проточного цитометра. При деполяризації мітохондріальної мембрани JC-1 не накопичується всередині мітохондрії, і знаходиться в цитоплазмі у вигляді мономерної форми, яка характеризується зеленим спектром світіння ( $\lambda=525$  нм), що вимірюється на FL-1 каналі.

В чисту пробірку перенесли 100 мкл суспензії нейтрофілів, що містила  $1 \times 10^6$  клітин, і центрифугували при 400 g 5 хв при кімнатній температурі. До клітинного осаду додавали 0,5 мл свіжоприготованого (згідно з інструкцією виробника) розчину JC-1. Клітини ресуспендували та інкубували 10-15 хв при 37°C. Після чого клітини двічі відмивали буфером.

Отримані зразки аналізували на проточному цитометрі Epics XL («Beckman Coulter», США). Результати виражали у відсотках (співвідношення числа нейтрофілів крові зі зниженим  $\Delta\Psi_m$  до загальної кількості нейтрофілів крові).

## 2.10 Оцінка апоптозу/некрозу нейтрофілів крові

Оцінку апоптозу/некрозу у популяції нейтрофілів крові проводили з використанням FITC-міченого анексину V з набору реагентів «ANNEXIN V FITC» («Beckman Coulter», США) [194].

До 200 мкл суспензії нейтрофілів ( $2,0 \times 10^6$  клітин в 1 мл) додавали 400 мкл охолодженого фосфатно-сольового буферу («Helikon», США), центрифугували протягом 5 хв при 1500 об/хв. Зливали надосад і ресуспендували клітини в 100 мкл  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючого буферу. Після додавання 1 мкл ANNEXIN

V FITC і перемішування на центрифугі вортекс проби поміщали на лід й інкубували 10 хв в темряві. Потім додавали 400 мкл охолодженого буферу і перемішували.

Аналіз проб проводили на проточному цитометрі Epics XL («Beckman Coulter», США) з аргонним лазером, визначаючи декілька параметрів: мале кутове світлорозсіювання (FSC), що характеризує розмір клітини, бічне світлорозсіювання (SSC), що характеризує цитоплазматичні, а також мембранні особливості клітини, і показник зеленої флуоресценції (флуоресцеїн ізотіоціанат – FITC – 530 нм). Досліджувану популяцію клітин гейтували в координатах FSC (вісь абсцис) і SSC (вісь ординат), потім аналізували наявність флуоресценції в координатах на основі Dot Plot. Використовували автоматичне програмне забезпечення і методи збору та аналізу даних з високою роздільною здатністю (1024 канали).

Дискримінаційний аналіз типу клітинної смерті включав: 1-й квадрант – клітини, негативні за анексином V і позитивні за PI – некроз; 2-й квадрант – нейтрофіли, позитивні за PI і анексином V-FITC – пізня стадія апоптозу або некроз; 3-й квадрант – нейтрофіли, негативні за PI і анексином V-FITC – життєздатні клітини; 4-й квадрант – нейтрофіли, позитивні за анексином V-FITC і негативні за PI – рання стадія апоптозу.

Отримані результати представляли у відсотках (співвідношення кількості ANV<sup>+</sup>-клітин до загальної кількості нейтрофілів крові чи співвідношення кількості PI<sup>+</sup>-клітин до загальної кількості нейтрофілів крові).

2.11 Дослідження показників енергозабезпечувального окиснення у мітохондріях нейтрофілів крові

#### *Визначення сукцинатдегідрогеназної активності*

Визначення сукцинатдегідрогеназної активності (СДГ) проводили згідно методу [195], принцип якого полягає у відновленні фериціаніду калію

( $K_3[Fe(CN)_6]$ ) до фероціаніду калію ( $K_4[Fe(CN)_6]$ ) сукцинатом за участі ензиму. Активність визначали за кількістю відновленого фероціаніду.

До суспензії мітохондрій в об'ємі, що містив 0,2 мг протеїну, додавали середовище інкубації (10 мМ фосфатний буфер (рН=7,8), 5 мМ бурштинову кислоту, 1,25 мМ ЕДТА, 7,5 мМ азид натрію). Проби інкубували при кімнатній температурі протягом 5 хв для інгібування цитохромоксидази азидом натрію. Реакцію розпочинали додаванням до проб 1,25 мМ розчину фероціаніду калію. Проби інкубували протягом 10 хв при +30 °С. Після інкубації реакцію зупиняли зниженням температури проб до 0 °С шляхом опускання проб у лід і додаванням 0,1 % додецилсульфату натрію (ДСН). В контрольні проби, які містили всі компоненти інкубаційної суміші, ДСН додавали перед внесенням суспензії мітохондріальних мембран. Після зупинки реакції і охолодження проби фотометрували на спектрофотетрі СФ-46 при довжині хвилі  $\lambda=420$  нм проти дистильованої  $H_2O$ . Для визначення вмісту фероціаніду в пробах, що містили від 100 до 1000 мкг фероціаніду в 4 мл розчину, будували калібрувальну криву. За різницею в показниках екстинції (Епр-Ек), застосовуючи калібрувальну криву, розраховували кількість фероціаніду, який відновлювався за час інкубації.

Сукцинатдегідрогеназну активність виражали у  $nmоль[Fe(CN)_6]/мг \times хв$ .

#### *Визначення цитохромоксидазної активності*

Метод визначення цитохромоксидазної активності (ЦХО) [196] базується на здатності ЦХО окиснювати не лише цитохроми, але й деякі органічні сполуки, зокрема диметил-пара-фенілендіамін. При окисненні останнього утворюється забарвлений пігмент із максимумом поглинання при 510 нм в кількості прямо пропорційній цитохромоксидазній активності мітохондрій.

В пробірки вносили по 0,3 мл суспензії мітохондрій, що містили 0,4-0,5 мг протеїну в 0,01 М К-На фосфатному буферному розчині (рН=7,4), по 0,2 мл 0,04 % водного розчину цитохрому с і дистильовану воду до 1 мл. Проби інкубували при 37 °С протягом 2 хвилин, а потім додавали по 0,1 мл 0,4 % розчину диметил-пара-фенілендіаміну. На секундомірі відмічали час початку

реакції та інкубували проби протягом 1-3 хвилин до появи червоного забарвлення. Після інкубації проби охолоджували на льоді та екстрагували утворений забарвлений продукт 4-кратним об'ємом суміші абсолютного спирту з тетрахлоретиленом (3:1). Осад відділяли центрифугуванням. Прозору забарвлену надосадову рідину обережно переносили в сухі пробірки і фотометрували на спектрофотометрі СФ-46 при 510 нм у кюветах 10 мм проти екстрагуючої суміші. Контрольну пробу готували аналогічним чином, але після додавання до суспензії мітохондрій цитохрому с в пробу вносили 1 мл абсолютного спирту для припинення реакції. Для того, щоб виразити цитохромоксидазну активність у нмолях окисненого диметил-пара-фенілендіаміну будували калібрувальний графік з використанням біхромату калію.

Цитохромоксидазну активність виражали у наномолях окисненого диметил-пара-фенілендіаміну на 1 мг протеїну за 1 хвилину.

## 2.12 Дослідження показників кісткового метаболізму та кальцій-фосфорного обміну

Стан кісткового метаболізму визначали за активністю фосфатаз: лужної (ЛФ) як маркера функціонування остеобластів та кислої (КФ) як маркера інтенсифікації діяльності остеокластів. Активність ЛФ визначали при рН=10,5, КФ – при рН=4,8. Субстратом для дії ензимів служив п-нітрофенілфосфат натрію, який під дією фосфатаз гідролізується до п-нітрофенолу, що має жовте забарвлення [197]. Інтенсивність забарвлення пропорційна активності ензимів. Вимірювання оптичної густини проводили на спектрофотометрі СФ-46. Активність ензимів виражали у мккат/л (сироватка крові) або мккат/кг (гомогенат пародонта).

За співвідношенням між активністю лужної і кислої фосфатаз (ЛФ/КФ) розраховували індекс мінералізації (ІМ) [198].

Визначення вмісту загального кальцію і неорганічного фосфату у



сироватці крові проводили на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі Humalyzer 2000 (Human, Німеччина) за допомогою стандартних наборів реактивів. Результати виражали у ммоль/л.

### 2.13 Дослідження показників метаболізму сполучної тканини

#### *Визначення активності колагенолітичної активності*

Колагенолітичну активність сироватки крові визначали за методом П.Н. Шараєва та співавторів [199]. У 2 центрифужні пробірки вносили по 10 мг колагену («Sigma-Aldrich», США) і 0,5 мл 0,004 М  $\text{CaCl}_2$  в боратному буфері (рН 8,0). В дослідну пробірку додавали 0,5 мл охолодженої сироватки крові. Обидві пробірки інкубували при 37 °С протягом 4 год. Потім в контрольну пробу додавали 0,5 мл охолодженої сироватки крові і в обидві пробірки вносили по 0,5 мл 1 М ТХО кислоти і 0,5 мл 8,5 М хлорної кислоти. Пробірки центрифугували при 3000 об./хв протягом 10 хв. По 1 мл надосадової рідини переносили в мірні пробірки і кип'ятили протягом 40 хв. Охолоджені гідролізати після додавання по 1 краплі фенолфталеїну нейтралізували 6 М NaOH до слабо-рожевого забарвлення (рН 8,0). Доводили об'єм гідролізату до 4 мл дистильованою водою. До проб, а також до 4 мл стандартних розчинів оксипроліну, додавали по 0,5 мл 0,26 М розчину хлораміну, інкубували 4 хв і додавали по 0,5 мл хлорної кислоти. Проби центрифугували при 3000 об./хв протягом 10 хв. До супернатанту додавали по 0,5 мл 0,67 М розчину парадиметиламінобензальдегіду в 94 % етанолі і кип'ятили протягом 2 хв. Через 10 хв проби фотометрували на спектрофотометрі при 560 нм.

Вираховували різницю величин оптичних щільностей дослідної і контрольної проб. Визначення колагенолітичної активності здійснювали за сумарною кількістю вільного і протейн-зв'язаного оксипроліну. Для цього знаходили по калібрувальній кривій відповідне оптичній щільності значення кількості оксипроліну за довжини хвилі  $\lambda=560$  нм. Величину колагенолітичної

активності виражали у мікромолях оксипроліну на 1 л сироватки за 1 год (мкмоль/л×год).

#### *Визначення вмісту глікозаміногліканів*

Вміст глікозаміногліканів (ГАГ) у сироватці крові визначали з використанням трихлороцтової кислоти і карбозольної реакції, яка забезпечує фіолетово-рожеве забарвлення [200]. В центрифужні пробірки додавали 0,5 мл сироватки крові і 2 мл охолодженого 94 % етанолу, що містив 0,1 М оцтовокислого калію і 0,17 М оцтової кислоти. Через 5 хв проби центрифугували при 3000 об./хв протягом 15 хв. Осад емульгували в 3 мл 1 М ТХО кислоти і суміш кип'ятили на водяній бані протягом 30 хв. Проби охолоджували і центрифугували при 3000 об./хв протягом 10 хв. В супернатанті визначали вміст гексуронових кислот. Для цього в 2 пробірки вносили по 1 мл супернатанту і по 5 мл концентрованої сірчаної кислоти, що містила 0,2 М тетраборнокислий натрій. Проби кип'ятили протягом 10 хв, після охолодження в дослідну пробірку додавали 0,1 мл 0,01 М розчину карбазолу в 94 % етанолі, а в контрольну 0,1 мл 94 % етанолу. Вміст пробірок кип'ятили протягом 2 хв. З'являлось фіолетово-рожеве забарвлення, інтенсивність якого вимірювали на спектрофотометрі при 530 нм.

Знаходили різницю величин оптичних щільностей дослідної і контрольної проб. Вміст ГАГ виражали через гексуронові кислоти в мікромолях на 1 л сироватки (мкмоль/л).

#### *Визначення вмісту фукози, не зв'язаної з протеїнами*

Вміст фукози, не зв'язаної з протеїнами визначали за методом П.Н. Шараєва та співавторів [201]. Принцип методу заснований на фотометричному визначенні хромогену, що утворюється в умовах послідовної дії на фукозу сірчаною кислотою та солянокислим цистеїном.

В 2 центрифужні пробірки (одна холоста) вносили по 0,1 мл сироватки крові і 0,5 мл 96 % етанолу. Вміст пробірок перемішували і центрифугували

(3000 об./хв, 10 хв), надосад переливали в чисті пробірки. Паралельно готували 2 стандартні проби (одна холоста), куди замість сироватки додавали по 0,1 мл стандартного розчину фукози. Всі 4 пробірки поміщали у воду з льодом і додавали по 2,3 мл охолодженої сірчаної кислоти. Вміст пробірок перемішували і кип'ятили на водяній бані протягом 3 хв. Після охолодження додавали по 0,1 мл 3 % розчину солянокислого цистеїну (крім холостих проб) і залишали на 60 хв при кімнатній температурі. Оптичну щільність дослідної і стандартної проб вимірювали при двох довжинах хвиль (396 і 430 нм) на спектрофотометрі проти холостих проб.

Знаходили різницю величин екстинкцій  $E = E_{396} - E_{430}$  окремо для дослідної і стандартної проб. За калібрувальним графіком, побудованим з використанням різниці величин екстинкцій стандартних розчинів, знаходили вміст фукози і її вміст виражали в мікромолях на 1 л сироватки (мкмоль/л).

#### *Визначення вмісту вільного оксипроліну*

Вміст вільного оксипроліну у сироватці крові визначали за методом С.С. Тетянець [202]. Принцип методу полягає у тому, що хлорамін окиснює диметиламінобензальдегід під час нагрівання з утворенням червоного забарвлення. Наявність оксипроліну кількісно змінює це забарвлення через конкурентність його окиснення хлораміном.

В пробірку вносили 1 мл сироватки і додавали 4 мл охолодженого 96 % етанолу. Центрифугували при 3000 об./хв протягом 10 хв. Надосадову рідину переносили в центрифужну пробірку і додавали 1 мл 7 % розчину (1:4) хлораміну в ацетатно-цитратному буфері (рН=6.0) і 1 мл ізопропілового спирту. Через 4 хв додавали 3 мл розчину парадиметиламінобензальдегіду в 57 % хлорній кислоті і доводили об'єм ізопропіловим спиртом до 10 мл. Пробу інкубували при 60 °С протягом 30 хв. Після охолодження фотометрування дослідних проб здійснювали за довжини хвилі  $\lambda = 560$  нм. Вміст вільного оксипроліну розраховували за калібрувальною кривою і виражали в мікромолях на 1 л сироватки (мкмоль/л).

### *Визначення вмісту сіалових кислот*

Вміст сіалових кислот у сироватці крові визначали за методом Гесса [203].

Принцип методу полягає у тому, що у результаті гідролізу безпротеїнового фільтрату сироватки крові зі складу сіалоглікопротеїнів виділяються сіалові кислоти, які з розчином сульфатної кислоти в льодяній оцтовій кислоті у киплячій водяній бані дають кольорову реакцію.

До 1 мл сироватки крові в центрифужні пробірки додавали 1 мл 10 % розчину ТХО. Проби кип'ятили протягом 5 хв, охолоджували і центрифугували. До 0,4 мл надосадової рідини додавали 5 мл реактиву Гесса і знову кип'ятили протягом 30 хв. Інтенсивність утвореного буровато-рожевого забарвлення вимірювали на спектрофотометрі за довжини хвилі  $\lambda=540$  нм.

Отриману екстинцію множили на коефіцієнт 1000, отримуючи результат в умовних одиницях (одиницях Гесса). Вміст сіалових кислот виражали у ммоль/л (для переведення із одиниць Гесса у ммоль/л результат дослідження множили на коефіцієнт 0,0115).

### 2.14 Статистичні методи дослідження

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення «Excel» («Microsoft», США) і «STATISTICA» 7.0 («Statsoft», США) з використанням непараметричних методів оцінки отриманих даних.

Зважаючи на непараметричний розподіл, кількісні характеристики ознак представляли у вигляді медіани та кuartилів (нижнього та верхнього) – Me (Lq; Uq). Порівняльний аналіз здійснювали з використанням непараметричного критерію Краскела-Уолліса. При отриманні його вірогідних значень ( $p < 0,05$ ) подальше попарне порівняння груп проводили з використанням критерію Манна-Уїтні з врахуванням поправки Бонферроні при оцінці значень  $p$ .

Взаємозв'язок між досліджуваними показниками встановлювали за результатами проведеного кореляційного аналізу з використанням коефіцієнта кореляції Пірсона. Вираховували коефіцієнт лінійної кореляції ( $r$ ) та його вірогідність ( $p$ ), що відповідним чином позначалося у таблицях (кореляційних матрицях). Зв'язок вважали слабким при коефіцієнті кореляції  $r$  0,1-0,30, помірної сили –  $r$  0,31-0,50, вираженим – при  $r$  0,51-0,70, високої сили – при  $r$  0,71-0,90, дуже високим –  $r$  0,91-0,99. При цьому також оцінювали направленість взаємозв'язку – пряму чи зворотню. Коефіцієнт кореляції оцінювали як вірогідний при  $p < 0,05$ .

**РОЗДІЛ 3**  
**ОСОБЛИВОСТІ ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ ЗА УМОВИ**  
**ЛІПОПОЛІСАХАРИД-ІНДУКОВАНОГО ЗАПАЛЕННЯ У ТКАНИНАХ**  
**ПАРОДОНТА БЕЗ СУПУТНЬОЇ ПАТОЛОГІЇ І НА ТЛІ**  
**ХРОНІЧНОЇ ТІОЛАКТОНОВОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ**

3.1 Особливості продукції реактантів гострої фази запалення за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії

Пародонтопатогенна мікрофлора є джерелом ендотоксинів, які, крім безпосередньої шкідливої дії на тканини пародонта, потрапляючи в кровеносне русло, стимулюють підвищену продукцію реактантів гострої фази або маркерних протеїнів запалення, у тому числі, і С-реактивного протеїну (СРП) [204].

Результати наших досліджень показали, що вміст СРП у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом збільшився на 56,7 % ( $p=0,018$ ) відносно контрольної групи (табл. 3.1). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс у 2,4 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 53,2 % перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними. Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоною ГГЦ, вміст СРП вірогідно збільшилася на 66,7 % відносно контрольної групи.

У гомогенаті пародонта зміни вмісту СРП виявилися більш вираженими відносно змін у сироватці крові. Так у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом даний показник збільшився в 2,2 раза ( $p=0,003$ ) відносно контрольної групи (табл. 3.1). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс у 4,1 раза ( $p<0,001$ ) відносно

контрольної групи, що на 82,8 % ( $p=0,009$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 3.1).

Таблиця 3.1 – Зміни вмісту СРП у сироватці крові та гомогенаті пародонта щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75])

Показник	Група тварин			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	Сироватка крові			
СРП, мг/л	0,30 (0,27; 0,36)	0,47 (0,44; 0,53)	0,50 (0,41; 0,53)	0,72 (0,55; 0,90)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=30,87$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,018^*$ $p_{1-3}=0,025^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,058$	$p_{3-4}=0,044^*$	–
	Гомогенат пародонта			
СРП, мг/кг	0,26 (0,19; 0,32)	0,58 (0,46; 0,70)	0,33 (0,23; 0,39)	1,06 (0,99; 1,17)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=39,79$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,003^*$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,059$ $p_{2-4}=0,009^*$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
Тут і в наступних таблицях розділу: Примітка 1. $p_{1-2}$ , $p_{1-3}$ , $p_{1-4}$ – вірогідність відмінностей між контрольною групою і дослідними групами; $p_{2-3}$ , $p_{2-4}$ – вірогідність відмінностей між групою з пародонтитом без супутньої патології і групою з ГГЦ та групою із пародонтитом на тлі ГГЦ; $p_{3-4}$ – вірогідність відмінностей між групою з ГГЦ і групою з пародонтитом на тлі ГГЦ. Примітка 2. * – статистично значущі результати.				

Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст СРП у гомогенаті пародонта збільшився на 26,9 % відносно контрольної групи, проте ці зміни виявилися статистично не вірогідними.

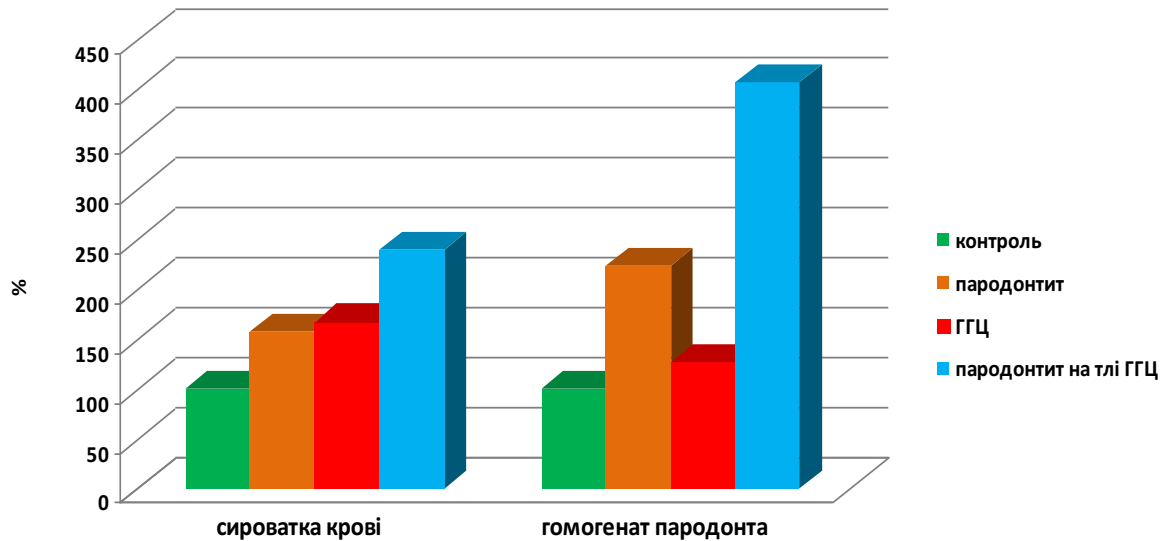


Рисунок 3.1 – Зміни вмісту СРП у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Проведений кореляційний аналіз між рівнем ГЦ та  $H_2S$  у сироватці крові та вмістом СРП у сироватці крові та гомогенаті пародонта у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології виявив вірогідну пряму взаємодію високої сили між рівнем ГЦ та вмістом СРП у гомогенаті пародонта (табл. 3.2).

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено вірогідну пряму взаємодію високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом СРП, як у сироватці крові, так і у гомогенаті пародонта. Щодо  $H_2S$ , то у щурів даної групи встановлено вірогідну зворотню взаємодію високої сили між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та вмістом СРП як у сироватці крові, так і у гомогенаті пародонта.

Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ встановлено вірогідну пряму кореляційну взаємодію помірної сили між рівнем ГЦ та вмістом СРП у сироватці крові та вірогідну зворотню кореляційну взаємодію помірної сили між рівнем  $H_2S$  та вмістом СРП у сироватці крові.



Таблиця 3.2 – Кореляційні зв'язки між між рівнем ГЦ та  $H_2S$  у сироватці крові та вмістом СРП за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ГЦ, мкмоль/л	СРП (сироватка крові)	$r=0,54$ $p=0,072$	$r=0,61$ ; $p=0,035^*$	$r=0,78$ ; $p=0,003^*$
	СРП (гомогенат парадонта)	$r=0,86$ ; $p<0,001^*$	$r=0,48$ ; $p=0,118$	$r=0,85$ ; $p<0,001^*$
$H_2S$ , мкмоль/л	СРП (сироватка крові)	$r=-0,51$ $p=0,065$	$r=-0,61$ ; $p=0,034^*$	$r=-0,79$ ; $p=0,002^*$
	СРП (гомогенат парадонта)	$r=-0,48$ ; $p=0,079$	$r=-0,54$ ; $p=0,068$	$r=-0,72$ ; $p=0,009^*$

Примітка. \* – статистично значущі результати.

3.2 Зміни цитокінового профілю за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії

Важливу роль у підтримці нормального гомеостазу тканин і при запаленні відіграють цитокіни – група гуморальних факторів системи імунітету, що є протеїновими або поліпептидними елементами, позбавленими специфічності щодо антигенів, які продукуються переважно активованими клітинами кровотворної та імунної систем і опосередковують міжклітинні взаємодії при кровотворенні, запаленні, імунних процесах і міжсистемних комунікаціях [205].

Результати наших досліджень показали, що вміст IL-4 у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вірогідно зменшився на 31,6 % відносно контрольної групи (табл. 3.3).

Таблиця 3.3 – Зміни вмісту інтерлейкінів у сироватці крові щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75])

Показник	Група тварин			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	1	2	3	4
ІЛ-4, пг/мл	24,35 (20,60; 29,15)	16,65 (13,85; 17,65)	22,75 (21,25; 23,80)	12,50 (11,75; 13,35)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=35,43$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,003^*$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,014^*$ $p_{2-4}=0,755$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
ІЛ-1 $\beta$ , пг/мл	8,30 (7,20; 9,20)	13,35 (10,95; 15,80)	13,90 (13,15; 14,60)	21,50 (19,05; 22,45)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=34,65$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,023^*$ $p_{1-3}=0,006^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,018^*$	$p_{3-4}<0,058$	–
ІЛ-10, пг/мл	17,55 (14,75; 18,35)	8,30 (6,70; 9,20)	7,55 (6,30; 7,95)	4,19 (4,04; 4,38)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=37,59$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,024^*$ $p_{1-3}=0,002^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,008^*$	$p_{3-4}<0,076$	–
TNF- $\alpha$ , пг/мл	5,01 (3,20; 7,75)	10,60 (9,70; 11,35)	9,36 (7,40; 11,77)	15,70 (15,10; 16,35)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=36,22$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,018^*$ $p_{1-3}=0,093$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,016^*$	$p_{3-4}=0,002^*$	–

Продовження таблиці 3.3

	1	2	3	4
IL-1 $\beta$ / IL-10	0,46 (0,39; 0,69)	1,84 (1,28; 2,08)	1,88 (1,65; 2,41)	5,02 (4,42; 5,73)
	Критерій Краскела-Уолліса H=39,17; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> =0,019* p <sub>1-3</sub> =0,004* p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,999 p <sub>2-4</sub> =0,006*	p <sub>3-4</sub> =0,028*	–

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зменшився на 48,7 % (p<0,001) відносно контрольної групи, що на 24,9 % нижче показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними.

Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст IL-4 вірогідно не змінився відносно контрольної групи.

Аналогічна тенденція щодо змін IL-4 спостерігалась і у гомогенаті пародонта. Так, у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вміст IL-4 вірогідно зменшився на 44,4 % відносно контрольної групи (табл. 3.4). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зменшився на 54,4 % (p<0,001) відносно контрольної групи, що на 17,9 % нижче показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними. У тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст IL-4 у гомогенаті пародонта також вірогідно не змінився відносно контрольної групи (рис. 3.2).

Результати наших досліджень показали, що вміст прозапального цитокіну – IL-1 $\beta$  у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вірогідно зріс на 60,8 % відносно контрольної групи (рис. 3.3).

Таблиця 3.4 – Зміни вмісту інтерлейкінів у гомогенаті пародонта щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ(Ме [Q25–Q75])

Показник	Група тварин			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ІЛ-4, пг/мг	10,53 (9,40; 12,78)	5,85 (5,65; 6,20)	9,80 (9,70; 10,00)	4,80 (4,68; 4,92)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=38,49$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,001^*$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,014^*$ $p_{2-4}=0,579$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
ІЛ-1 $\beta$ , пг/мг	4,80 (4,39; 5,03)	10,06 (8,11; 11,55)	5,95 (5,10; 7,05)	15,40 (13,95; 16,75)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=40,00$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,001^*$ $p_{1-3}=0,845$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,148$ $p_{2-4}=0,179$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
ІЛ-10, пг/мг	7,10 (6,30; 8,20)	3,13 (2,83; 3,42)	5,55 (4,85; 6,35)	1,75 (0,91; 1,92)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=41,73$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,001^*$ $p_{1-3}=0,918$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,089$ $p_{2-4}=0,215$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
TNF- $\alpha$ , пг/мг	1,98 (1,32; 2,26)	4,01 (3,06; 5,07)	2,25 (2,05; 3,12)	9,35 (8,40; 10,15)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=37,00$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,007^*$ $p_{1-3}=0,970$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,397$ $p_{2-4}=0,004^*$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
ІЛ-1 $\beta$ / ІЛ-10	0,69 (0,58; 0,77)	3,34 (3,01; 3,45)	1,04 (0,92; 1,32)	9,32 (7,13; 17,58)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=42,84$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}<0,001^*$ $p_{1-3}=0,452$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,143$ $p_{2-4}=0,215$	$p_{3-4}<0,001^*$	–

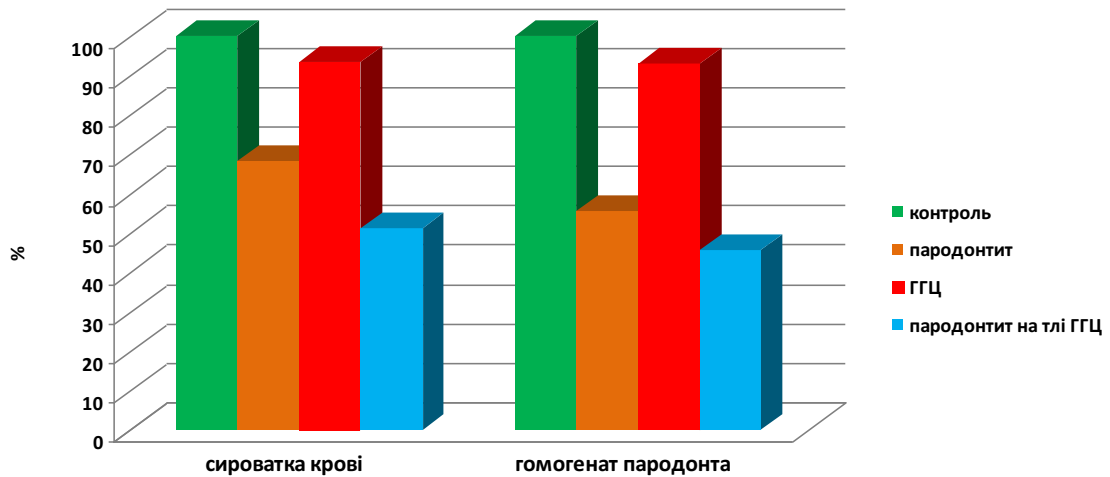


Рисунок 3.2 – Зміни вмісту ІЛ-4 у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник збільшився в 2,6 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 61,0 % вірогідно вище показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст ІЛ-1 $\beta$  на 67,5 % вірогідно перевищував дані контрольної групи (рис. 3.3).

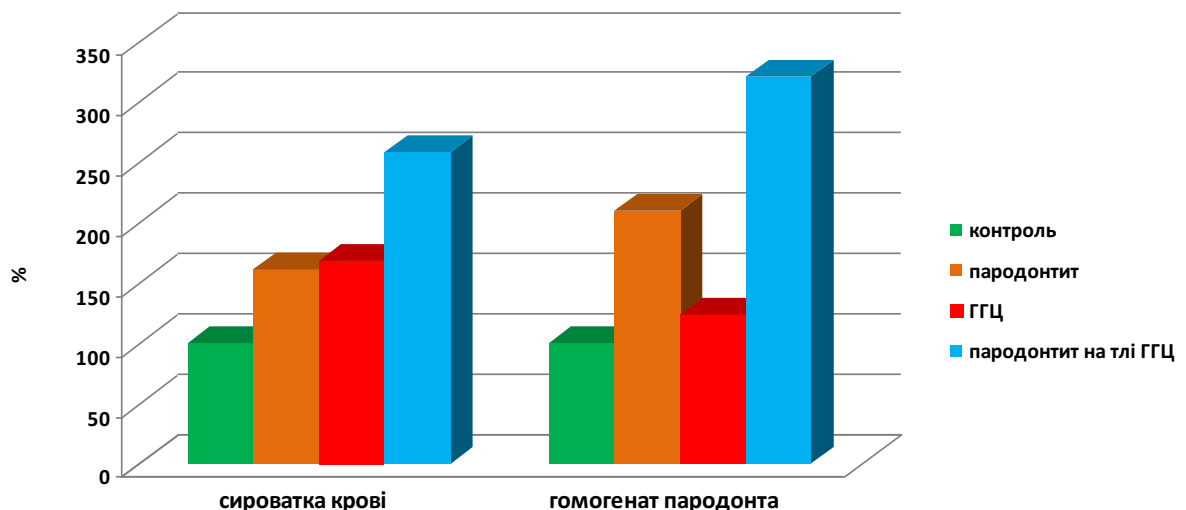


Рисунок 3.3 – Зміни вмісту ІЛ-1 $\beta$  у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

У гомогенаті пародонта інтенсивність змін вмісту IL-1 $\beta$  була вищою відносно сироватки крові. Так, у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вміст IL-1 $\beta$  вірогідно збільшився в 2,1 раза відносно контрольної групи (див. табл. 3.4). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник збільшився в 3,2 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 53,1 % вище показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними (див. рис. 3.3). У тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст IL-1 $\beta$  у гомогенаті пародонта вірогідно не змінився відносно контрольної групи.

Фактор некрозу пухлин- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) є одним із основних медіаторів, що визначає розвиток і прогресування запалення у тканинах пародонта [206]. Результати наших досліджень показали, що вміст TNF- $\alpha$  у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вірогідно зріс в 2,1 раза відносно контрольної групи (див. табл. 3.3). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник збільшився в 3,1 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 48,1 % вірогідно вище показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст TNF- $\alpha$  на 86,8 % перевищував дані контрольної групи, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними (рис. 3.4).

У гомогенаті пародонта інтенсивність змін вмісту TNF- $\alpha$  була вищою відносно сироватки крові. Так, у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вміст TNF- $\alpha$  вірогідно збільшився в 2,0 рази відносно контрольної групи (рис. 3.4). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник збільшився в 4,7 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що в 2,3 раза вірогідно вище показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. У тварин з ізольованою

хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст TNF- $\alpha$  у гомогенаті пародонта вірогідно не змінився відносно контрольної групи.

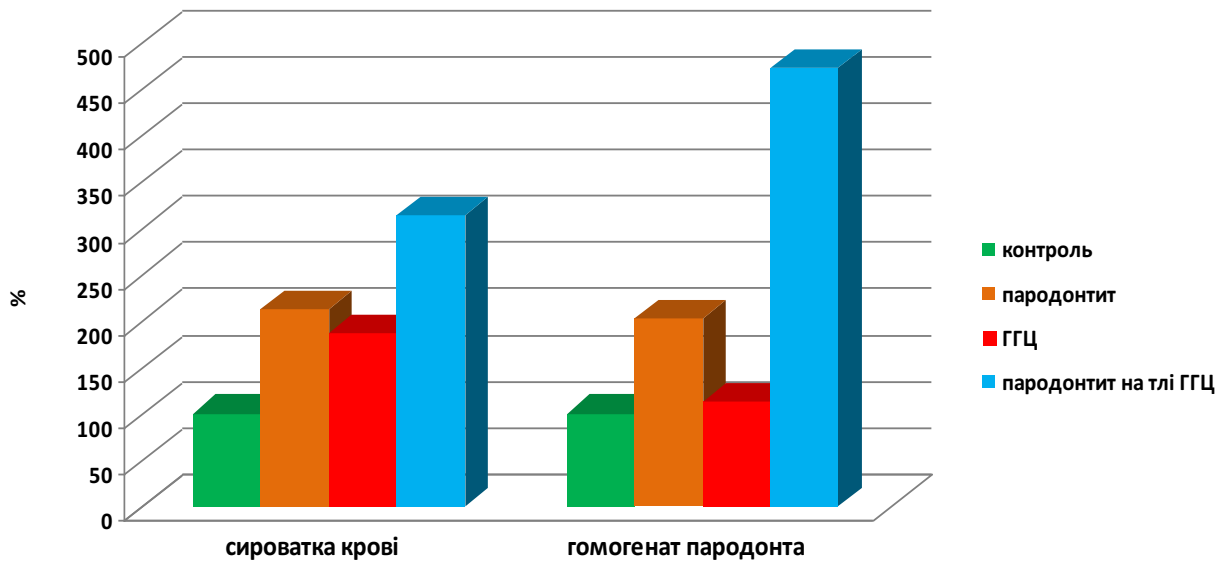


Рисунок 3.4 – Зміни вмісту TNF- $\alpha$  у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Інтерлейкін 10 (IL-10) відноситься до протизапальних цитокінів. У сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом даний показник зменшився на 52,7 % ( $p=0,024$ ) відносно контрольної групи (див. табл. 3.3). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зменшився в 4,2 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 49,5 % вірогідно нижче показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст IL-10 на 57,0 % був вірогідно нижчий даних контрольної групи (рис. 3.5).

Аналогічна тенденція щодо змін IL-10 спостерігалась і у гомогенаті пародонта. Так, у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вміст IL-10 вірогідно зменшився на 55,9 % відносно контрольної групи (див. табл. 3.4). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зменшився в 4,1 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що в 1,8 раза нижче показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без

супутньої патології, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними. У тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст IL-10 у гомогенаті пародонта вірогідно не змінився відносно контрольної групи.

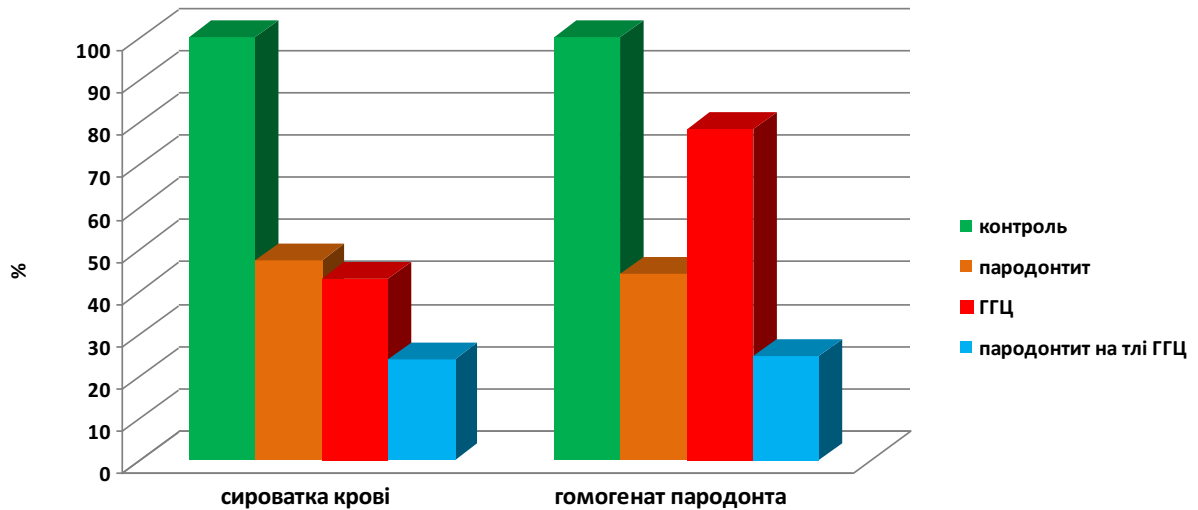


Рисунок 3.5 – Зміни вмісту IL-10 у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Величина співвідношення у сироватці крові цитокинів з прозапальною та протизапальною активністю (IL-1 $\beta$ /IL-10) у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом зросла у 4,0 рази ( $p=0,019$ ) відносно контрольної групи (див. табл. 3.3). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник збільшився в 10,9 рази ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що в 2,7 рази вірогідно вище показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, співвідношення IL-1 $\beta$ /IL-10 в 4,1 рази вірогідно перевищувало дані контрольної групи (рис. 3.6).

У гомогенаті пародонта величина співвідношення IL-1 $\beta$ /IL-10 у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом зросла у 4,8 рази ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи (див. табл. 3.4). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник збільшився в 13,5 рази ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що в 2,8 рази вірогідно вище показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. Варто



вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, співвідношення IL-1 $\beta$ /IL-10 в 1,5 раза перевищувало дані контрольної групи, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними.

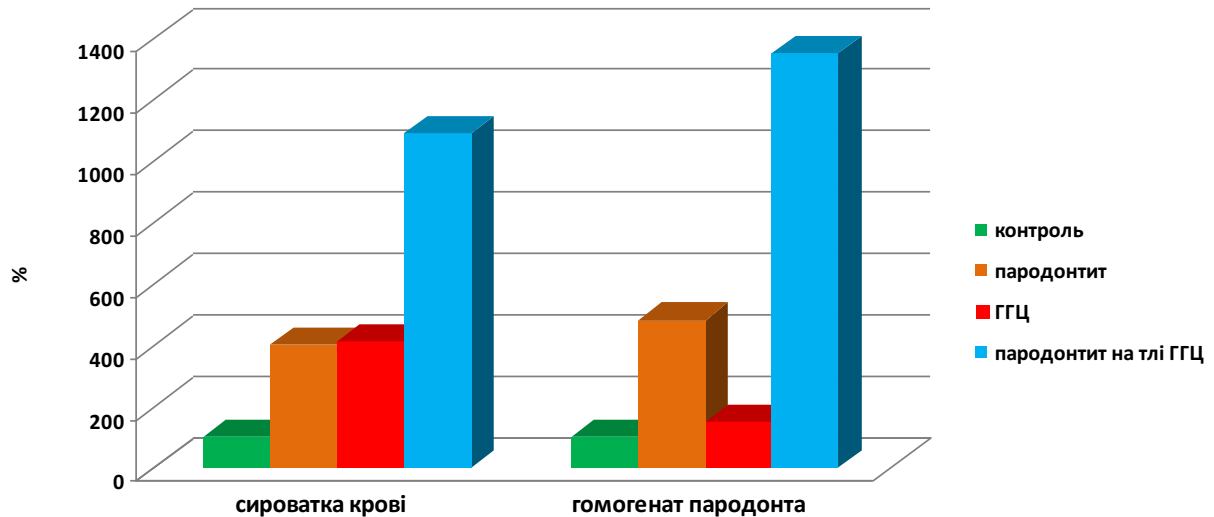


Рисунок 3.6 – Зміни співвідношення IL-1 $\beta$ /IL-10 у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Проведений кореляційний аналіз між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом про- та протизапальних інтерлейкінів у сироватці крові і гомогенаті пародонта у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології виявив вірогідну пряму взаємодію високої сили між рівнем ГЦ та вмістом IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$  у гомогенаті пародонта (табл. 3.5).

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено вірогідну пряму взаємодію високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$ , як у сироватці крові, так і у гомогенаті пародонта. Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ встановлено вірогідну пряму кореляційну взаємодію високої сили між рівнем ГЦ та вмістом IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$  у сироватці крові (табл. 3.5).

Таблиця 3.5 – Кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом про- та протизапальних інтерлейкінів за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ГЦ, мкмоль/л	IL-4 (сироватка крові)	$r=-0,41$ $p=0,182$	$r=0,29$ ; $p=0,355$	$r=-0,41$ ; $p=0,131$
	IL-4 (гомогенат пародонта)	$r=-0,07$ ; $p=0,826$	$r=-0,43$ ; $p=0,168$	$r=0,01$ ; $p=0,965$
	IL-1 $\beta$ (сироватка крові)	$r=0,46$ $p=0,135$	$r=0,77$ ; $p=0,004^*$	$r=0,82$ ; $p=0,001^*$
	IL-1 $\beta$ (гомогенат пародонта)	$r=0,80$ ; $p=0,002^*$	$r=0,50$ ; $p=0,141$	$r=0,74$ ; $p=0,006^*$
	IL-10 (сироватка крові)	$r=0,43$ $p=0,160$	$r=0,21$ ; $p=0,507$	$r=-0,41$ ; $p=0,181$
	IL-10 (гомогенат пародонта)	$r=0,41$ ; $p=0,122$	$r=-0,25$ ; $p=0,435$	$r=-0,52$ ; $p=0,231$
	TNF- $\alpha$ (сироватка крові)	$r=0,43$ $p=0,168$	$r=0,85$ ; $p<0,001^*$	$r=0,76$ ; $p=0,004^*$
	TNF- $\alpha$ (гомогенат пародонта)	$r=0,75$ ; $p=0,005^*$	$r=0,09$ ; $p=0,786$	$r=0,78$ ; $p=0,003^*$
Примітка. * – статистично значущі результати.				

Проведений кореляційний аналіз між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та вмістом про- та протизапальних інтерлейкінів у сироватці крові і гомогенаті пародонта у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології виявив вірогідну зворотню взаємодію дуже високої сили між рівнем  $H_2S$  та вмістом IL-1 $\beta$  в сироватці крові (табл. 3.6).

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено вірогідну зворотню взаємодію високої сили між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та вмістом IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$ , як у сироватці крові,

так і у гомогенаті пародонта. Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ встановлено вірогідну зворотню кореляційну взаємодію високої сили між рівнем  $H_2S$  та вмістом IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$  у сироватці крові та вірогідну зворотню взаємодію помірної сили між рівнем  $H_2S$  та вмістом IL-4 (табл. 3.6).

Таблиця 3.6 – Кореляційні зв'язки між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та вмістом про- та протизапальних інтерлейкінів за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
H <sub>2</sub> S, мкмоль/л	IL-4 (сироватка крові)	r=0,54 p=0,068	r=-0,63; p=0,029*	r=0,66; p=0,018*
	IL-4 (гомогенат пародонта)	r=0,04; p=0,896	r=0,27; p=0,396	r=0,13; p=0,696
	IL-1 $\beta$ (сироватка крові)	r=-0,91 p<0,001*	r=-0,84; p=0,001*	r=-0,83; p=0,002*
	IL-1 $\beta$ (гомогенат пародонта)	r=-0,54; p=0,070	r=-0,54; p=0,068	r=-0,74; p=0,006*
	IL-10 (сироватка крові)	r=-0,16 p=0,614	r=0,21; p=0,516	r=0,49; p=0,106
	IL-10 (гомогенат пародонта)	r=-0,57; p=0,055	r=0,21; p=0,519	r=0,43; p=0,159
	TNF- $\alpha$ (сироватка крові)	r=-0,19 p=0,564	r=-0,90; p<0,001*	r=-0,79; p=0,002*
	TNF- $\alpha$ (гомогенат пародонта)	r=-0,26; p=0,409	r=-0,32; p=0,307	r=-0,88; p<0,001*

Примітка. \* – статистично значущі результати.

На основі наведених у розділі 3 результатів можна зробити такі проміжні висновки:

1. ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується вірогідним зростанням вмісту реактанта гострої фази запалення – СРП, як у гомогенаті пародонта (в 2,2 раза;  $p=0,003$ ), так і у сироватці крові (на 56,7 %;  $p=0,018$ ), що свідчить про розвиток не лише локальних запальних реакцій за умови пародонтиту, але й системних.

2. ГГЦ посилює продукцію СРП за умови ЛПС-індукованого пародонтиту, що підтверджується переважанням вмісту СРП на 82,8 % ( $p=0,009$ ) у гомогенаті пародонта тварин з поєднаною патологією відносно щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології та наявністю вірогідних прямих кореляційних взаємодій високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом СРП, як у сироватці крові ( $r=0,78$ ;  $p=0,003$ ), так і у гомогенаті пародонта ( $r=0,85$ ;  $p<0,001$ ).

3. ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується гіперпродукцією прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) на тлі зниження вмісту протизапальних цитокінів (IL-4, IL-10), як у гомогенаті пародонта, так і у сироватці крові, що відіграє важливу роль в ініціації і прогресуванні пародонтиту та запуску метаболічних каскадних реакцій.

4. ГГЦ посилює цитокіновий дисбаланс за умови ЛПС-індукованого пародонтиту, на що вказує переважання вмісту одного із основних медіаторів розвитку та прогресування запалення у тканинах пародонта -TNF- $\alpha$  відносно щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології як у сироватці крові (на 48,1 %;  $p<0,001$ ) так і у гомогенаті пародонта (в 2,3 раза;  $p<0,001$ ) та наявність вірогідних прямих кореляційних взаємодій високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$ , як у сироватці крові ( $r=0,82$ ;  $p=0,001$  і  $r=0,76$ ;  $p=0,004$  відповідно), так і у гомогенаті пародонта ( $r=0,74$ ;  $p=0,006$  і  $r=0,78$ ;  $p=0,003$  відповідно).

Результати розділу опубліковані у наукових працях автора [207, 208].

**РОЗДІЛ 4**

**ОСОБЛИВОСТІ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ТА**  
**ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ЗА УМОВИ ЛІПОПОЛІСАХАРИД-**  
**ІНДУКОВАНОГО ЗАПАЛЕННЯ У ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА**  
**БЕЗ СУПУТНЬОЇ ПАТОЛОГІЇ І НА ТЛІ**  
**ХРОНІЧНОЇ ТІОЛАКТОНОВОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ**

4.1 Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії

Результати наших досліджень показали, що інтенсивність процесів ПОЛ, що визначалася за вмістом первинних і вторинних продуктів ліпопероксидації вірогідно збільшилася у тварин усіх дослідних груп (табл. 4.1). Так, вміст гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом збільшився на 52,8 % ( $p=0,004$ ) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс у 2,2 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 46,8 % ( $p=0,001$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 4.1). Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоною ГГЦ, вміст ГПЛ збільшилася на 36,5 % відносно контрольної групи, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними ( $p=0,520$ ).

У гомогенаті пародонта вміст ГПЛ у тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом збільшився в 2,0 рази ( $p=0,002$ ) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс у 3,1 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 52,2 % перевищує показник за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, проте ці дані також виявилися статистично не вірогідними ( $p=0,132$ ). У тварин з ізольованою хронічною тіолактоною ГГЦ, вміст ГПЛ у гомогенаті пародонта відносно контрольної групи вірогідно не змінився.

Таблиця 4.1 – Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів у щурів з пародонтизом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75])

Показник	Дослідна група			
	Контроль	Пародонтизм	ГГЦ	Пародонтизм на тлі ГГЦ
Сироватка крові				
ТБК-АП, мкмоль/л	5,70 (5,40; 6,10)	11,25 (10,65; 11,60)	9,45 (8,20; 10,05)	17,38 (16,99; 18,16)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=42,47; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> <0,001* p <sub>1-3</sub> =0,007* p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,223 p <sub>2-4</sub> =0,004*	p <sub>3-4</sub> <0,001*	–
ГПЛ, ум.од. /мг протеїну	1,97 (1,81; 2,08)	3,01 (2,78; 3,40)	2,69 (2,00; 2,88)	4,42 (4,16; 4,61)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=36,62; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> =0,004* p <sub>1-3</sub> =0,520 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,545 p <sub>2-4</sub> =0,001*	p <sub>3-4</sub> <0,001*	–
Гомогенат пародонта				
ТБК-АП, мкмоль/кг	0,89 (0,81; 1,05)	2,62 (2,49; 2,74)	1,06 (0,96; 1,22)	3,96 (3,88; 4,27)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=41,39; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> <0,001* p <sub>1-3</sub> =0,999 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,006* p <sub>2-4</sub> =0,004*	p <sub>3-4</sub> <0,001*	–
ГПЛ, ум.од. /мг протеїну	0,56 (0,35; 0,71)	1,13 (0,98; 1,29)	0,81 (0,76; 0,90)	1,72 (1,42; 1,77)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=38,06; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> =0,002* p <sub>1-3</sub> =0,452 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,417 p <sub>2-4</sub> =0,132	p <sub>3-4</sub> <0,001*	–
Тут і в наступних таблицях розділу:				
Примітка 1. p <sub>1-2</sub> , p <sub>1-3</sub> , p <sub>1-4</sub> – вірогідність відмінностей між контрольною групою і дослідними групами; p <sub>2-3</sub> , p <sub>2-4</sub> – вірогідність відмінностей між групою з пародонтизом без супутньої патології і групою з ГГЦ та групою із пародонтизом на тлі ГГЦ; p <sub>3-4</sub> – вірогідність відмінностей між групою з ГГЦ і групою з пародонтизом на тлі ГГЦ.				
Примітка 2. * – статистично значущі результати.				

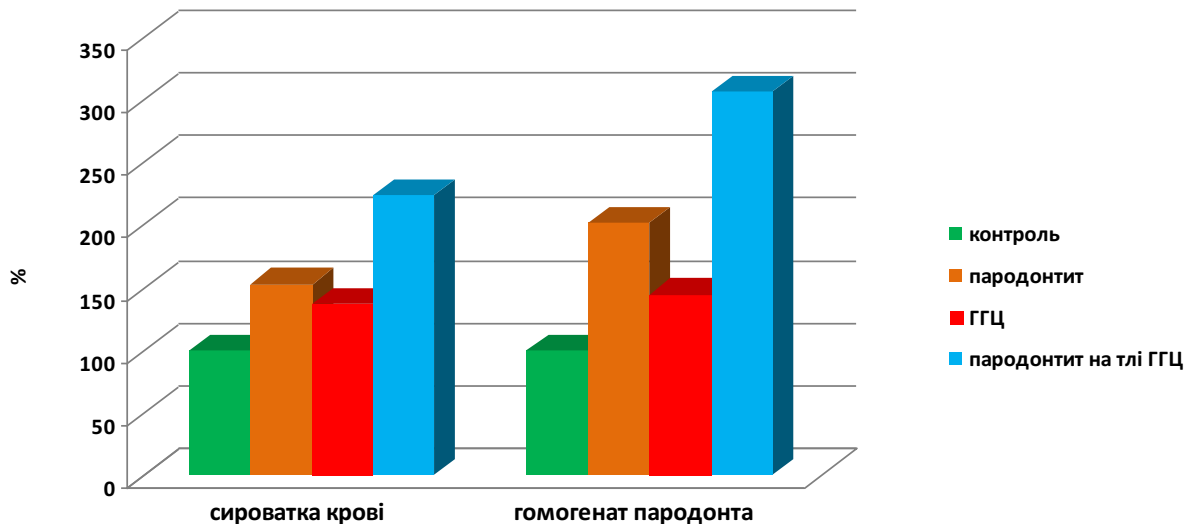


Рисунок 4.1 – Зміни вмісту ГПЛ у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Щодо ТБК-АП, то інтенсивність змін даного показника у сироватці крові була вищою відносно ГПЛ. Так у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вміст ТБК-АП збільшився на 97,4 % ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс у 3,0 рази ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 54,5 % ( $p = 0,004$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 4.2). Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст ТБК-АП у сироватці крові вірогідно збільшився на 65,8 % відносно контрольної групи.

У гомогенаті пародонта тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом вміст ТБК-АП збільшився в 2,9 рази ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс у 4,4 рази ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 51,1 % ( $p = 0,004$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст ТБК-АП вірогідно не змінився відносно контрольної групи.

Проведений кореляційний аналіз між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом ГПЛ та ТБК-АП у сироватці крові та гомогенаті пародонта у щурів із

ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології виявив вірогідну пряму взаємодію помірної сили між рівнем ГЦ та вмістом ГПЛ та ТБК-АП у сироватці крові (табл. 4.2).

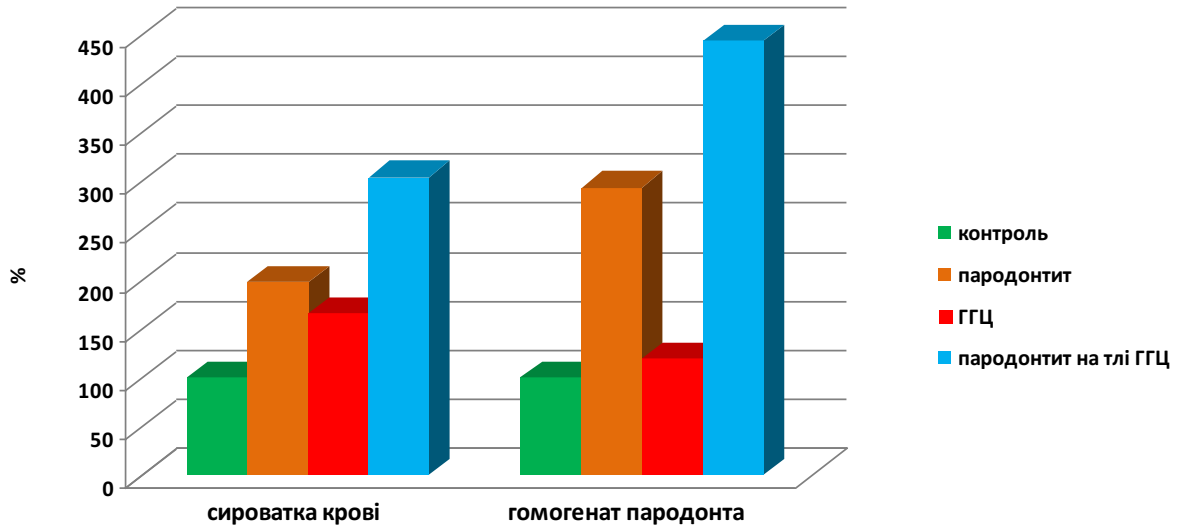


Рисунок 4.2 – Зміни вмісту ТБК-АП у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Таблиця 4.2 – Кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ у сироватці крові та показниками пероксидного окиснення ліпідів за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ГЦ, мкмоль/л	ТБК-АП, мкмоль/л (сироватка крові)	$r=0,63$ ; $p=0,027^*$	$r=0,45$ ; $p=0,146$	$r=0,80$ ; $p=0,002^*$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну (сироватка крові)	$r=0,58$ ; $p=0,046^*$	$r=0,37$ ; $p=0,240$	$r=0,69$ ; $p=0,013^*$
	ТБК-АП, мкмоль/кг (гомогенат пародонта)	$r=0,33$ ; $p=0,291$	$r=0,24$ ; $p=0,455$	$r=0,67$ ; $p=0,018^*$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну (гомогенат пародонта)	$r=0,56$ ; $p=0,059$	$r=0,55$ ; $p=0,065$	$r=0,48$ ; $p=0,115$

Примітка. \* – статистично значущі результати.



У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено вірогідну пряму взаємодію високої сили між рівнем ГЦ та вмістом ТБК-АП у сироватці крові; вірогідну пряму взаємодію помірної сили між рівнем ГЦ та вмістом ГПЛ у сироватці крові; вірогідну пряму взаємодію помірної сили між рівнем ГЦ та вмістом ТБК-АП у гомогенаті пародонта (див. табл. 4.2).

Проведений кореляційний аналіз між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та вмістом ГПЛ та ТБК-АП у сироватці крові та гомогенаті пародонта у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології виявив вірогідну зворотню взаємодію високої сили між рівнем  $H_2S$  та вмістом ТБК-АП у сироватці крові (табл. 4.3).

Таблиця 4.3 – Кореляційні зв'язки між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та показниками пероксидного окиснення ліпідів за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
$H_2S$ , мкмоль/л	ТБК-АП, мкмоль/л (сироватка крові)	$r=-0,78$ ; $p=0,003^*$	$r=-0,72$ ; $p=0,009^*$	$r=-0,71$ ; $p=0,009^*$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну (сироватка крові)	$r=-0,33$ ; $p=0,303$	$r=-0,10$ ; $p=0,761$	$r=-0,51$ ; $p=0,092$
	ТБК-АП, мкмоль/кг (гомогенат пародонта)	$r=-0,32$ ; $p=0,308$	$r=-0,60$ ; $p=0,040^*$	$r=-0,89$ ; $p<0,001^*$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну (гомогенат пародонта)	$r=-0,42$ ; $p=0,176$	$r=-0,67$ ; $p=0,016^*$	$r=-0,69$ ; $p=0,013^*$
Примітка. * – статистично значущі результати.				

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено вірогідну зворотню взаємодію високої сили між

рівнем  $H_2S$  та вмістом ТБК-АП у сироватці крові; вірогідну зворотню взаємодію високої сили між рівнем  $H_2S$  та вмістом ТБК-АП у гомогенаті пародонта; вірогідну зворотню взаємодію помірної сили між рівнем  $H_2S$  та вмістом ГПЛ у гомогенаті пародонта (див. табл. 4.3).

4.2 Зміни показників окиснювальної модифікації протеїнів за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії

Найчутливішими до інтенсифікації процесів ВРО і основними акцепторами АФО є протеїни. В результаті взаємодії АФО з протеїнами виникає як зворотня, так і незворотня окиснювальна модифікація цих молекул [209]. Ступінь окиснювальної модифікації протеїнів (ОМП) ми оцінювали за вмістом альдегідо- та кетоніохідних протеїнів нейтрального (ОМП<sub>370</sub>) та основного характеру (ОМП<sub>430</sub>).

Результати наших досліджень показали, що показники ОМП у сироватці крові вірогідно збільшувалися у тварин усіх дослідних груп (табл. 4.4). Так, вміст альдегідо- і кетоніохідних нейтрального характеру у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології збільшився на 69,3 % ( $p=0,001$ ) відносно контрольної групи.

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс у 2,5 рази ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 49,6 % ( $p=0,004$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 4.3). Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоною ГГЦ, вміст альдегідо- і кетоніохідних нейтрального характеру вірогідно не відрізнявся відносно контрольної групи та відносно даних за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології.

Таблиця 4.4 – Зміни показників окиснювальної модифікації протеїнів у щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75])

Показник	Дослідна група			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
Сироватка крові				
ОМП <sub>370</sub> , ммоль/Г протеїну	0,75 (0,69; 0,89)	1,27 (1,19; 1,35)	1,11 (0,97; 1,19)	1,90 (1,71; 2,02)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=37,19; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> =0,001* p <sub>1-3</sub> =0,265 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,536 p <sub>2-4</sub> =0,004*	p <sub>3-4</sub> =0,001*	–
ОМП <sub>430</sub> , ммоль/Г протеїну	0,53 (0,50; 0,58)	1,04 (0,96; 1,12)	0,95 (0,91; 1,07)	1,83 (1,71; 1,94)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=38,48; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> =0,001* p <sub>1-3</sub> =0,008 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,820 p <sub>2-4</sub> =0,006*	p <sub>3-4</sub> <0,001*	–
Гомогенат пародонта				
ОМП <sub>370</sub> , ммоль/Г протеїну	0,51 (0,45; 0,58)	1,23 (1,13; 1,37)	0,91 (0,81; 0,97)	1,69 (1,49; 1,83)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=42,68; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> <0,001* p <sub>1-3</sub> =0,247 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,172 p <sub>2-4</sub> =0,326	p <sub>3-4</sub> <0,001*	–
ОМП <sub>430</sub> , ммоль/Г протеїну	0,26 (0,22; 0,31)	0,63 (0,60; 0,70)	0,47 (0,44; 0,53)	1,45 (1,34; 1,61)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=42,99; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> <0,001* p <sub>1-3</sub> =0,148 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,424 p <sub>2-4</sub> <0,001*	p <sub>3-4</sub> <0,001*	–

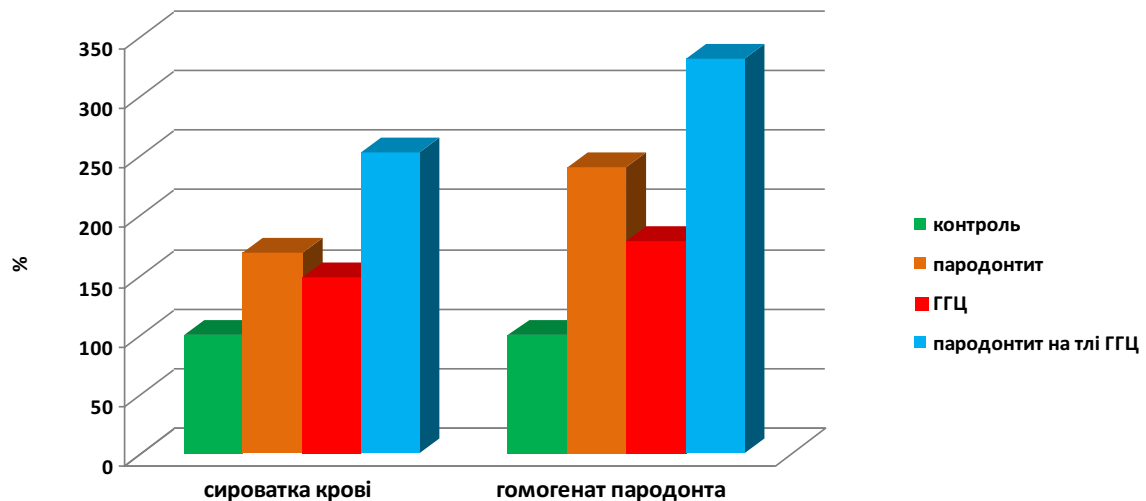


Рисунок 4.3 – Зміни вмісту ОМП<sub>370</sub> у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Вміст альдегідо- і кетонпохідних основного характеру у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології збільшився на 96,2 % ( $p=0,001$ ) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс у 3,5 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 76,0 % ( $p=0,006$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 4.4). Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст альдегідо- і кетонпохідних основного характеру вірогідно перевищував дані контрольної групи на 79,2 % та вірогідно не відрізнявся відносно даних за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології.

У гомогенаті пародонта тварин із змодельованим пародонтитом вміст альдегідо- та кетонпохідних нейтрального та основного характеру збільшувався інтенсивніше відносно сироватки крові. Так, вміст альдегідо- і кетонпохідних нейтрального характеру у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології збільшився в 2,4 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс у 3,3 раза ( $p<0,001$ ) відносно

контрольної групи, що на 37,4 % перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними.

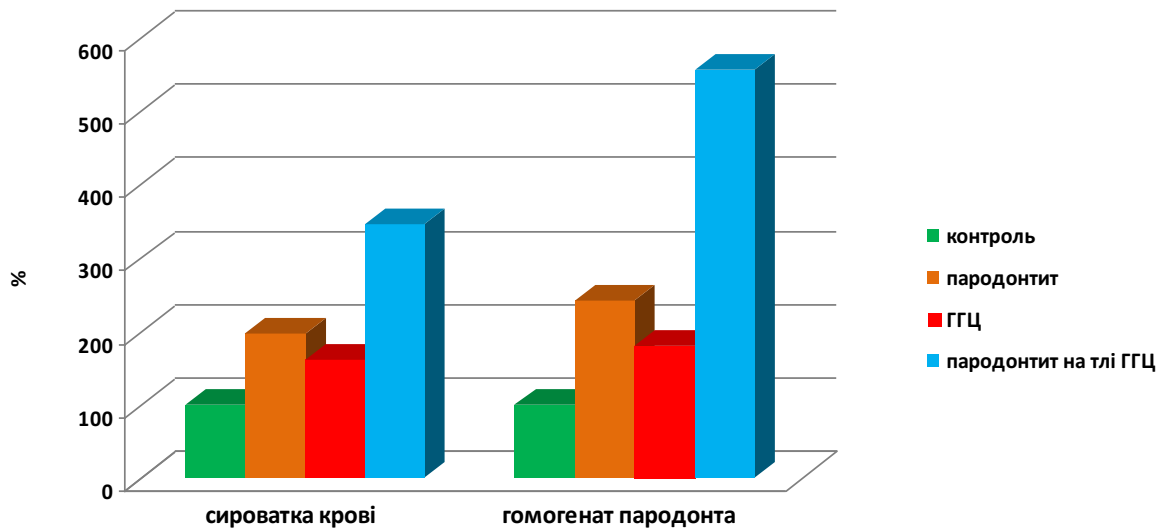


Рисунок 4.4 – Зміни вмісту ОМР<sub>430</sub> у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст альдегідо- і кетоніпохідних нейтрального характеру у гомогенаті пародонта вірогідно не перевищував дані контрольної групи.

Щодо зміни вмісту альдегідо- і кетоніпохідних основного характеру у гомогенаті пародонта дослідних тварин, то у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології даний показник зріс в 2,8 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ вміст альдегідо- і кетоніпохідних основного характеру зріс у 5,6 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 98,6 % ( $p < 0,001$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст альдегідо- і кетоніпохідних основного характеру у гомогенаті пародонта також вірогідно не перевищував дані контрольної групи.

Аналізуючи кореляційні взаємодії між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом альдегідо- і кетоніпохідних нейтрального та основного характеру встановлено низку вірогідних кореляційних взаємозв'язків у тварин усіх дослідних груп (табл. 4.5). Особливу цікавість викликає наявність вірогідної прямої взаємодії високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом альдегідо- і кетоніпохідних основного характеру у гомогенаті пародонта як за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, так і у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ.

Таблиця 4.5 – Кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ у сироватці крові та показниками ОМП за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ГЦ, мкмоль/л	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну (сироватка крові)	$r=0,76$ ; $p=0,004^*$	$r=0,70$ ; $p=0,011^*$	$r=0,80$ ; $p=0,002^*$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну (сироватка крові)	$r=0,32$ ; $p=0,304$	$r=0,66$ ; $p=0,020^*$	$r=0,62$ ; $p=0,033^*$
	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну (гомогенат пародонта)	$r=0,69$ ; $p=0,013^*$	$r=0,72$ ; $p=0,008^*$	$r=0,57$ ; $p=0,052$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну (гомогенат пародонта)	$r=0,71$ ; $p=0,010^*$	$r=0,90$ ; $p<0,001^*$	$r=0,73$ ; $p=0,007^*$
Примітка. * – статистично значущі результати.				

Аналізуючи кореляційні взаємодії між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та вмістом альдегідо- і кетоніпохідних нейтрального та основного характеру встановлено лише одну вірогідну зворотню взаємодію помірної сили між рівнем  $H_2S$  та вмістом альдегідо- і кетоніпохідних нейтрального характеру у

сироватці крові тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології та дві вірогідні зворотні взаємодії високої сили між рівнем  $H_2S$  та вмістом альдегідо- і кетоніпохідних нейтрального характеру у сироватці крові і між рівнем  $H_2S$  та альдегідо- і кетоніпохідних основного характеру у гомогенаті пародонта у тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (табл. 4.6)..

Таблиця 4.6 – Кореляційні зв'язки між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та показниками ОМП за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
$H_2S$ , мкмоль/л	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну (сироватка крові)	$r=-0,64$ ; $p=0,025^*$	$r=-0,78$ ; $p=0,003$	$r=-0,79$ ; $p=0,002^*$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну (сироватка крові)	$r=-0,30$ ; $p=0,340$	$r=-0,65$ ; $p=0,021^*$	$r=-0,48$ ; $p=0,118$
	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну (гомогенат пародонта)	$r=-0,44$ ; $p=0,154$	$r=-0,82$ ; $p=0,001^*$	$r=-0,51$ ; $p=0,092$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну (гомогенат пародонта)	$r=-0,52$ ; $p=0,087$	$r=-0,92$ ; $p<0,001^*$	$r=-0,75$ ; $p=0,005^*$
Примітка. * – статистично значущі результати.				

4.3 Особливості функціонування антиоксидантної системи за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії

Відомо, що активність процесів ПОЛ та ОМП залежить не лише від інтенсивності утворення вільних радикалів, а й від функціонального стану антиоксидантної системи (АОС), тобто від її здатності перехоплювати і

знешкоджувати АФО [209]. Результати наших досліджень показали, що супероксиддисмутазна активність у супернатанті гемолізатів еритроцитів щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології зменшилася на 39,9 % ( $p=0,012$ ) відносно контрольної групи (табл. 4.7). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зменшився в 3,1 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 46,6 % вірогідно нижче даних за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології.

Таблиця 4.7 – Зміни показників ензимної ланки антиоксидантної системи у гемолізаті еритроцитів щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75])

Показник	Дослідна група			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
СОД, ум. од./мг протеїну	9,50 (7,50; 9,90)	5,71 (5,41; 6,01)	7,60 (6,20; 7,95)	3,05 (2,55; 4,05)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=32,11$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,012^*$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,504$ $p_{2-4}=0,008^*$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
Каталаза, ммоль/хв × мг протеїну	5,35 (5,15; 5,70)	4,72 (4,31; 4,81)	5,15 (4,60; 5,60)	3,15 (2,60; 3,60)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=28,71$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,160$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,029^*$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
СОД/Каталаза	1,65 (1,44; 1,76)	1,25 (1,12; 1,33)	1,48 (1,14; 1,62)	1,12 (0,90; 1,44)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=9,25$ ; $p=0,026^*$			
	$p_{1-2}=0,063$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4}=0,053$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,999$	$p_{3-4}=0,999$	–



У гомогенаті пародонта встановлено більш виражені зміни активності СОД, особливо за поєднаної патології (табл. 4.8). Так, у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зменшився в 5,1 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що в 2,7 раза вірогідно нижче даних за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології.

Таблиця 4.8 – Зміни показників ензимної ланки антиоксидантної системи у гомогенаті пародонта щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75])

Показник	Дослідна група			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
СОД, ум. од./мг протеїну	0,91 (0,80; 1,07)	0,48 (0,34; 0,52)	0,85 (0,78; 0,98)	0,18 (0,13; 0,20)
	Критерій Краскела-Уолліса $N=33,74$ ; $p < 0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,007^*$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4} < 0,001^*$	$p_{2-3}=0,038^*$ $p_{2-4}=0,009^*$	$p_{3-4} < 0,001^*$	–
Каталаза, ммоль/хв × мг протеїну	0,56 (0,45; 0,71)	0,42 (0,30; 0,53)	0,63 (0,47; 0,77)	0,33 (0,29; 0,43)
	Критерій Краскела-Уолліса $N=19,43$ ; $p < 0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,148$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4}=0,003^*$	$p_{2-3}=0,067$ $p_{2-4}=0,999$	$p_{3-4}=0,001^*$	–
СОД/Каталаза	1,66 (1,27; 1,99)	1,00 (0,88; 1,30)	1,33 (1,00; 1,89)	0,52 (0,35; 0,70)
	Критерій Краскела-Уолліса $N=16,56$ ; $p < 0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,284$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4} < 0,001^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,003^*$	$p_{3-4}=0,001^*$	–

Каталазна активність у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології вірогідно не відрізнялася від контролю, як в супернатанті гемолізатів еритроцитів, так і в гомогенаті пародонта. У щурів із ЛПС-

індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ каталазна активність в супернатанті гемолізатів еритроцитів вірогідно зменшилася на 41,1 %, що на 33,3 % ( $p=0,029$ ) нижче даних за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. У гомогенаті пародонта каталазна активність у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ вірогідно не відрізнялася від даних за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології.

Співвідношення СОД/Каталаза в супернатанті гемолізатів еритроцитів не зазнало вірогідних змін у тварин усіх дослідних груп відносно контролю. У гомогенаті пародонта даний показник вірогідно зменшився в 3,2 раза відносно контрольної групи лише у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ. При цьому співвідношення СОД/Каталаза на 48,0 % ( $p=0,003$ ) було нижче від даних за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 4.5).

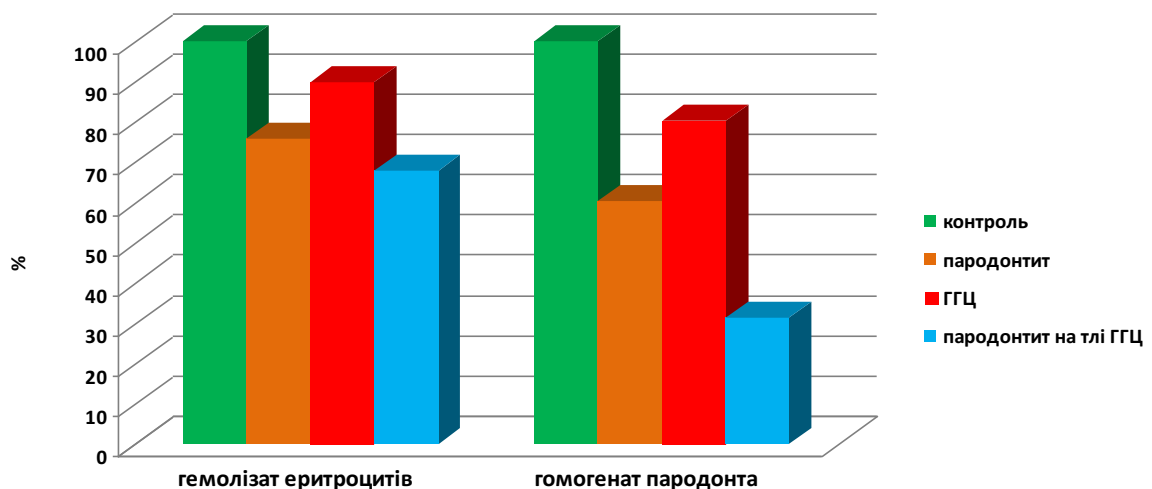


Рисунок 4.5 – Зміни співвідношення СОД/Каталаза за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, усі досліджувані показники ензимної ланки АОС як у супернатанті гемолізатів еритроцитів, так і в гомогенаті пародонта вірогідно не відрізнялася відносно контрольної групи.

Аналізуючи кореляційні взаємозв'язки між рівнем ГЦ та  $H_2S$  у сироватці крові та показниками ензимної ланки антиоксидантної системи у щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології вірогідних кореляцій не виявлено (табл. 4.9).

Таблиця 4.9 – Кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ та  $H_2S$  у сироватці крові та показниками ензимної ланки антиоксидантної системи за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ГЦ, мкмоль/л	СОД (гемолізат еритроцитів)	$r=-0,17$ $p=0,599$	$r=-0,55$ ; $p=0,063$	$r=-0,93$ ; $p<0,001^*$
	СОД (гомогенат пародонта)	$r=-0,46$ ; $p=0,131$	$r=-0,67$ ; $p=0,017^*$	$r=-0,85$ ; $p<0,001^*$
	Каталаза (гемолізат еритроцитів)	$r=-0,05$ $p=0,888$	$r=0,47$ ; $p=0,122$	$r=0,06$ ; $p=0,862$
	Каталаза (гомогенат пародонта)	$r=-0,35$ ; $p=0,271$	$r=0,33$ ; $p=0,301$	$r=0,19$ ; $p=0,554$
$H_2S$ , мкмоль/л	СОД (гемолізат еритроцитів)	$r=-0,04$ $p=0,914$	$r=0,64$ ; $p=0,025^*$	$r=0,80$ ; $p=0,002^*$
	СОД (гомогенат пародонта)	$r=-0,02$ ; $p=0,948$	$r=0,52$ ; $p=0,083$	$r=0,74$ ; $p=0,005^*$
	Каталаза (гемолізат еритроцитів)	$r=-0,14$ $p=0,665$	$r=-0,25$ ; $p=0,428$	$r=-0,19$ ; $p=0,548$
	Каталаза (гомогенат пародонта)	$r=0,03$ ; $p=0,931$	$r=-0,20$ ; $p=0,527$	$r=-0,34$ ; $p=0,284$
Примітка. * – статистично значущі результати.				

У тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено зворотню кореляцію дуже високої сили між рівнем ГЦ та активністю СОД у гемолізаті еритроцитів; зворотню кореляцію високої сили між рівнем ГЦ та активністю СОД у гомогенаті пародонта; пряму

кореляцію високої сили між рівнем  $H_2S$  та активністю СОД у гемолізаті еритроцитів; пряму кореляцію високої сили між рівнем  $H_2S$  та активністю СОД у гомогенаті пародонта.

Досліджуючи в сироватці крові вміст церулоплазміну (ЦП), що є мідьвмісною фероксидазою та володіє антиоксидантним ефектом, зумовленим його електрон-акцепторними властивостями [210], ми встановили, що даний показник у щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології зріс на 63,6 % ( $p=0,024$ ) відносно контрольної групи (табл. 4.10).

Таблиця 4.10 – Зміни показників неензимної ланки антиоксидантної системи у сироватці крові щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75])

Показник	Група тварин			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ЦП, г/л	0,33 (0,25; 0,44)	0,54 (0,47; 0,63)	0,36 (0,29; 0,44)	0,14 (0,13; 0,22)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=32,92$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,024^*$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4}=0,027^*$	$p_{2-3}=0,052$ $p_{2-4}<0,001^*$	$p_{3-4}=0,012^*$	–
ЗААС, %	56,00 (51,85; 61,25)	26,04 (23,45; 30,12)	40,20 (33,25; 41,15)	17,11 (14,44; 21,17)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=42,30$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}<0,001^*$ $p_{1-3}=0,160$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,294$ $p_{2-4}=0,265$	$p_{3-4}<0,001^*$	–

У тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ вміст ЦП зазнав протилежно направлених змін і вірогідно зменшився на 57,6 % відносно контрольної групи. При цьому у даної когорти тварин вміст ЦП був в 3,9 раза ( $p=0,027$ ) нижчим відносно щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології (рис. 4.6).

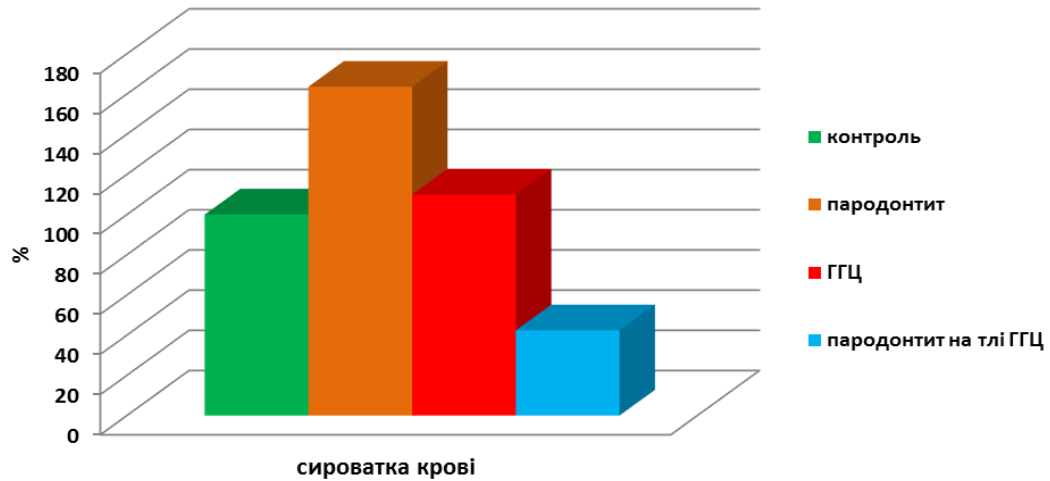


Рисунок 4.6 – Зміни вмісту ЦП в сироватці крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Щодо загальної антиоксидантної активності сироватки крові (ЗААС), то даний показник у щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології зменшився на 53,5 % ( $p < 0,001$ ), а у тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ – на 69,4 % ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи (рис. 4.7).

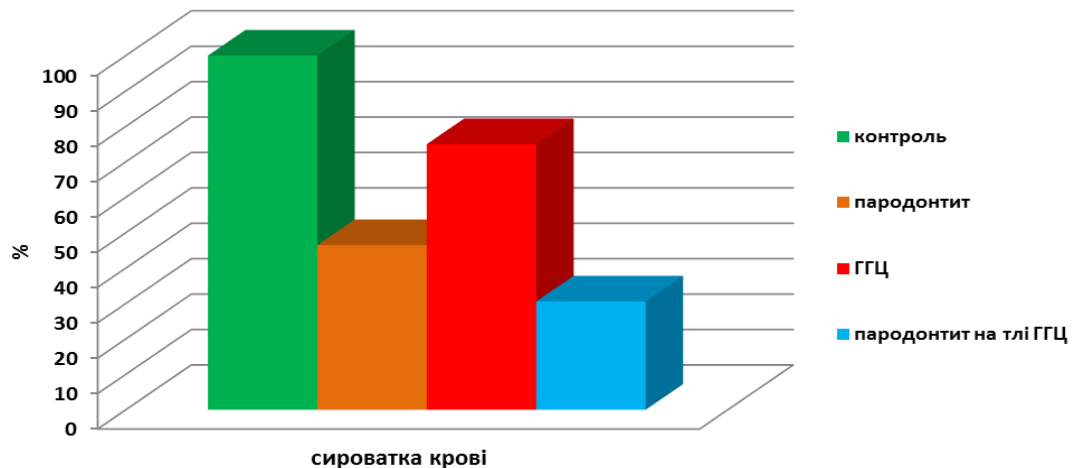


Рисунок 4.7 – Зміни ЗААС за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Варто вказати, що ЗААС за поєднаної патології вірогідно не відрізнялася від даних за ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології. У тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст ЦП та ЗААС вірогідно не

відрізнялися відносно контрольної групи.

Аналізуючи кореляційні взаємозв'язки між рівнем ГЦ та  $H_2S$  у сироватці крові та вмістом ЦП і ЗААС у щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології вірогідних кореляцій не виявлено (табл. 4.11). У тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено зворотню кореляцію високої сили між рівнем ГЦ та ЗААС; пряму кореляцію помірної сили між рівнем  $H_2S$  та ЗААС.

Таблиця 4.11 – Кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ та  $H_2S$  у сироватці крові та вмістом ЦП і ЗААС за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ГЦ, мкмоль/л	ЦП, г/л	$r=-0,40$ $p=0,202$	$r=-0,38$ ; $p=0,221$	$r=0,05$ ; $p=0,874$
	ЗААС, %	$r=-0,46$ ; $p=0,137$	$r=-0,05$ ; $p=0,879$	$r=-0,79$ ; $p=0,002^*$
$H_2S$ , мкмоль/л	ЦП, г/л	$r=0,14$ $p=0,687$	$r=0,68$ ; $p=0,015^*$	$r=0,30$ ; $p=0,349$
	ЗААС, %	$r=0,57$ ; $p=0,053$	$r=0,08$ ; $p=0,803$	$r=0,68$ ; $p=0,015^*$
Примітка. * – статистично значущі результати.				

4.4 Особливості ендогенної інтоксикації за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії

Активация процесів ВРО є важливим патофізіологічним механізмом розвитку ендогенної інтоксикації. Результати наших досліджень показали, що вміст  $MCM_1$  у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології збільшився на 30,3 % ( $p=0,009$ ) відносно контрольної групи

(табл. 4.12). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс на 90,9 % ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 46,5 % вірогідно перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 4.8). Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст МСМ<sub>1</sub> у сироватці крові перевищував дані контрольної групи на 21,2 %, проте ці зміни виявилися статистично не вірогідними.

Таблиця 4.12 – Зміни показників ендогенної інтоксикації у щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі гіпергомоцистеїнемії (Ме [Q25–Q75])

Показник	Дослідна група			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	1	2	3	4
Сироватка крові				
МСМ <sub>1</sub> , ум. од.	0,33 (0,31; 0,35)	0,43 (0,37; 0,50)	0,40 (0,38; 0,41)	0,63 (0,62; 0,64)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=34,98$ ; $p < 0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,009^*$ $p_{1-3}=0,243$ $p_{1-4} < 0,001^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,007^*$	$p_{3-4}=0,001^*$	–
МСМ <sub>2</sub> , ум. од.	0,12 (0,12; 0,13)	0,19 (0,17; 0,20)	0,16 (0,14; 0,19)	0,39 (0,38; 0,41)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=39,29$ ; $p < 0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,003^*$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4} < 0,001^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,001^*$	$p_{3-4} < 0,001^*$	–
МСМ <sub>1</sub> , ум. од.	0,12 (0,11; 0,13)	0,20 (0,18; 0,21)	0,12 (0,11; 0,14)	0,39 (0,39; 0,41)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=38,60$ ; $p < 0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,007^*$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4} < 0,001^*$	$p_{2-3}=0,009^*$ $p_{2-4}=0,001^*$	$p_{3-4} < 0,001^*$	–

Продовження таблиці 4.12

	1	2	3	4
Гомогенат пародонта				
MCM <sub>2</sub> , ум. од.	0,08 (0,07; 0,09)	0,19 (0,18; 0,21)	0,10 (0,09; 0,12)	0,37 (0,36; 0,38)
Критерій Краскела-Уолліса H=40,39; p<0,001*				
	p <sub>1-2</sub> <0,001* p <sub>1-3</sub> =0,226 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,007* p <sub>2-4</sub> =0,001*	p <sub>3-4</sub> <0,001*	—

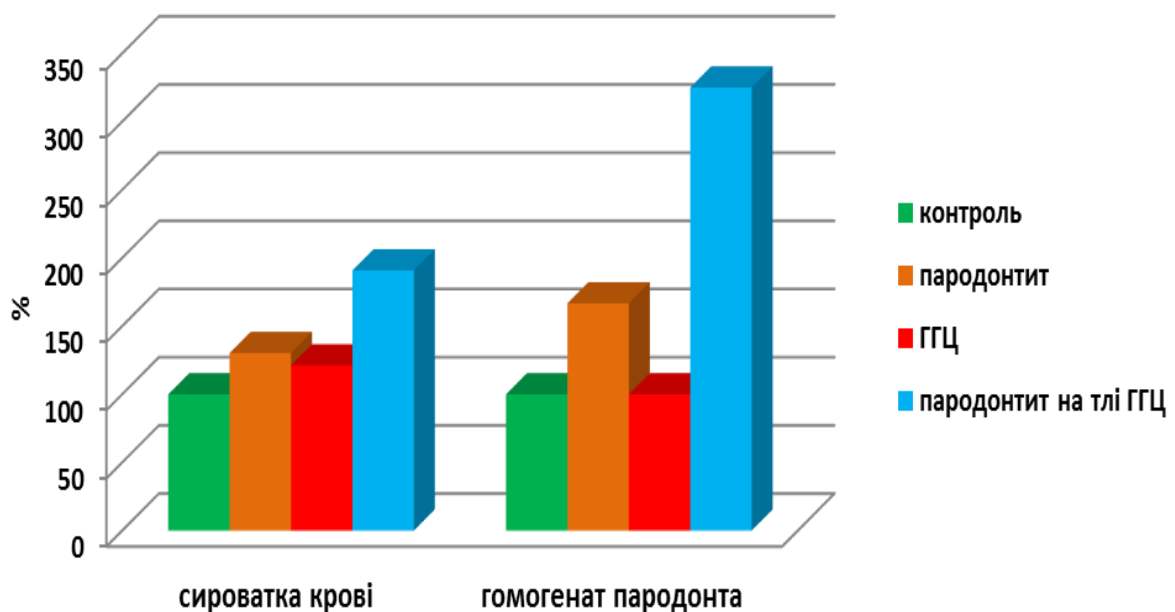


Рисунок 4.8 – Зміни вмісту MCM<sub>1</sub> у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

У гомогенаті пародонта вміст MCM<sub>1</sub> у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології збільшився на 66,7 % (p=0,007) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс в 3,3 раза (p<0,001) відносно контрольної групи, що на 95,0 % вірогідно перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (див. рис. 4.8). При цьому у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст MCM<sub>1</sub> у гомогенаті пародонта не змінився відносно даних контрольної групи.



Щодо змін вмісту  $MCM_2$  у сироватці крові, то у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології даний показник збільшився на 58,3 % ( $p=0,003$ ) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ вміст  $MCM_2$  зріс в 3,3 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що в 2,1 раза вірогідно перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 4.9). Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст  $MCM_2$  у сироватці крові перевищував дані контрольної групи на 33,3 %, проте ці зміни виявилися статистично не вірогідними.

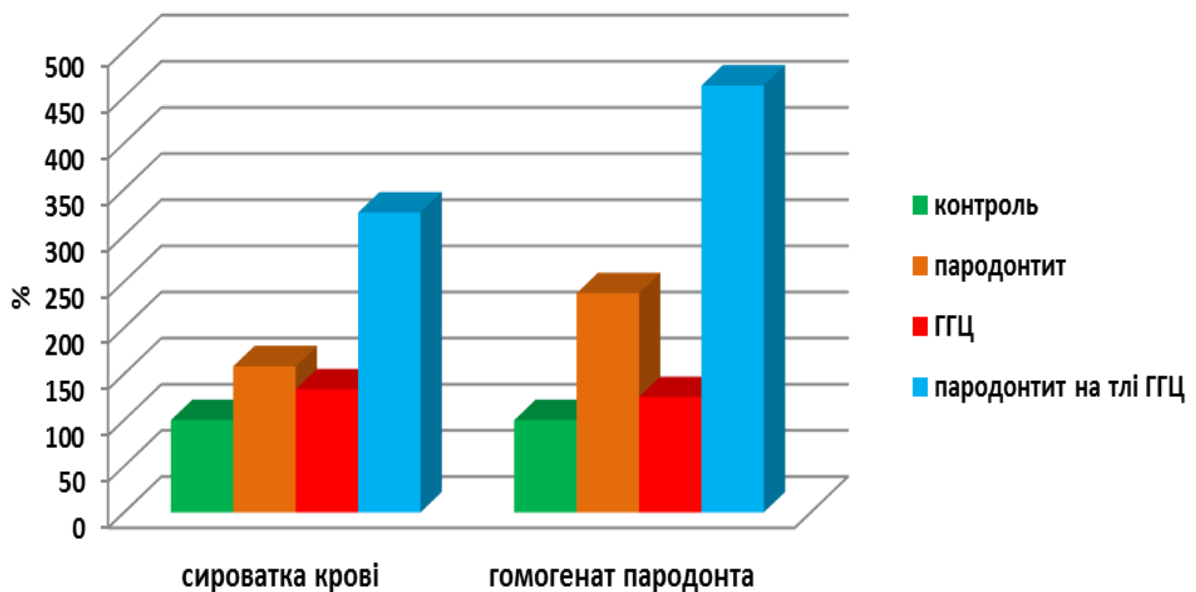


Рисунок 4.9 – Зміни вмісту  $MCM_2$  у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

У гомогенаті пародонта вміст  $MCM_2$  у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології збільшився в 2,4 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс в 4,6 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 94,7 % вірогідно перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. При цьому у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст  $MCM_2$  у гомогенаті

пародонта зріс на 25,0 % відносно даних контрольної групи, проте ці зміни виявилися статистично не вірогідними.

Проведений кореляційний аналіз між рівнем ГЦ у сироватці крові та показниками ендогенної інтоксикації у сироватці крові та гомогенаті пародонта у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології виявив вірогідні прямі взаємодії високої сили між рівнем ГЦ та вмістом МСМ<sub>1</sub> і МСМ<sub>2</sub> у сироватці крові (табл. 4.13). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено вірогідні кореляційні взаємодії високої та середньої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові не лише із вмістом МСМ<sub>1</sub> і МСМ<sub>2</sub> у сироватці крові, але й у гомогенаті пародонта.

Таблиця 4.13 – Кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ у сироватці крові та показниками ендогенної інтоксикації за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ГЦ, мкмоль/л	МСМ <sub>1</sub> , ум. од. (сироватка крові)	r=0,82; p=0,001*	r=0,92; p<0,001*	r=0,79; p=0,002*
	МСМ <sub>2</sub> , ум. од. (сироватка крові)	r=0,85; p<0,001*	r=0,80; p=0,002*	r=0,84; p=0,001*
	МСМ <sub>1</sub> , ум. од. (гомогенат пародонта)	r=0,48; p=0,137	r=0,52; p=0,083	r=0,62; p=0,030*
	МСМ <sub>2</sub> , ум. од. (гомогенат пародонта)	r=0,54; p=0,091	r=0,60; p=0,041*	r=0,80; p=0,002*

Примітка. \* – статистично значущі результати.

Аналізуючи кореляційні взаємодії між рівнем H<sub>2</sub>S у сироватці крові та показниками ендогенної інтоксикації у сироватці крові та гомогенаті пародонта щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ

встановлено вірогідні кореляційні взаємозв'язки між усіма досліджуваними показниками (табл. 4.14). Водночас за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології вірогідних кореляцій між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та показниками ендогенної інтоксикації у сироватці крові та гомогенаті пародонта не виявлено.

Таблиця 4.14 – Кореляційні зв'язки між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та показниками ендогенної інтоксикації за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
$H_2S$ , мкмоль/л	МСМ <sub>1</sub> , ум. од. (сироватка крові)	$r=-0,28$ $p=0,384$	$r=-0,78$ ; $p=0,003^*$	$r=-0,66$ ; $p=0,019^*$
	МСМ <sub>2</sub> , ум. од. (сироватка крові)	$r=-0,32$ ; $p=0,304$	$r=-0,73$ ; $p=0,007^*$	$r=-0,85$ ; $p=0,001^*$
	МСМ <sub>1</sub> , ум. од. (гомогенат пародонта)	$r=-0,46$ ; $p=0,137$	$r=-0,62$ ; $p=0,031^*$	$r=-0,80$ ; $p=0,002^*$
	МСМ <sub>2</sub> , ум. од. (гомогенат пародонта)	$r=-0,46$ ; $p=0,137$	$r=-0,62$ ; $p=0,033^*$	$r=-0,82$ ; $p=0,001^*$

Примітка. \* – статистично значущі результати.

На основі наведених у розділі 4 результатів можна зробити такі проміжні висновки:

1. ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується вірогідним підвищенням інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації протеїнів на тлі зниження функціональної активності антиоксидантного захисту як у гомогенаті пародонта, так і у крові.

2. ГГЦ посилює оксидативний стрес за умови пародонтиту, на що вказують вірогідно вищі значення ТБК-активних продуктів та показників ОМП

як у сироватці крові, так і у гомогенаті пародонта щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі ГГЦ відносно ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології та низка вірогідних кореляційних взаємодій між рівнем ГЦ у сироватці крові та ТБК-АП і ОМП.

3. Інтенсифікація реакцій вільнорадикального окиснення за умови ЛПС-індукованого пародонтиту супроводжується підвищенням рівня ендогенної інтоксикації, на що вказує зростання вмісту  $MCM_1$  і  $MCM_2$  як на системному (сироватка крові), так і локальному (гомогенат пародонта) рівнях. Інтенсивність змін є вищою у гомогенаті пародонта, що ймовірно пов'язано з безпосереднім пошкодженням, деструктивними змінами, розвитком запалення, гіпоксією та активацією вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів.

4. ГГЦ посилює ендогенну інтоксикацію при ЛПС-індукованому пародонтиті на що вказують вірогідно вищі значення вмісту  $MCM_1$  і  $MCM_2$  у досліджуваних біологічних рідинах за умови поєднаної патології та прямі кореляційні взаємодії між рівнем ГЦ у сироватці крові і вмістом  $MCM_1$  і  $MCM_2$  не лише у сироватці крові ( $r=0,79$ ;  $p=0,002$  і  $r=0,84$ ;  $p=0,001$  відповідно), але й у гомогенаті пародонта ( $r=0,62$ ;  $p=0,030$  і  $r=0,80$ ;  $p=0,002$  відповідно).

Результати розділу опубліковані у наукових працях автора [211, 212].

**РОЗДІЛ 5**  
**ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ І МЕТАБОЛІЧНОЇ АКТИВНОСТІ,**  
**ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ТА РЕАЛІЗАЦІЇ ПРОГРАМОВАНОЇ**  
**ЗАГИБЕЛІ НЕЙТРОФІЛІВ КРОВІ У ЩУРІВ ЗА УМОВИ**  
**ЛІПОПОЛІСАХАРИД-ІНДУКОВАНОГО ЗАПАЛЕННЯ У ТКАНИНАХ**  
**ПАРОДОНТА БЕЗ СУПУТНЬОЇ ПАТОЛОГІЇ І НА ТЛІ ХРОНІЧНОЇ**  
**ТІОЛАКТОНОВОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ**

5.1 Зміни функціональної і метаболічної активності нейтрофілів крові за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії

У запальних реакціях, що супроводжують пошкодження тканин будь-якого генезу, особливу роль відіграють нейтрофіли та макрофаги. Першими до вогнища запалення надходять сегментоядерні та паличкоядерні нейтрофіли, які здатні до фагоцитозу, хоча і менш ефективно як моноцити/макрофаги [213]. Водночас, нейтрофіли є не лише модуляторами запалення, але й активними ефекторами імунних реакцій [214]. Тому важливим у розумінні патогенезу ГП є визначення функціонального стану нейтрофілів крові. Результати наших досліджень встановили підвищення фагоцитарної активності (ФА) нейтрофілів крові у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології на 23,7 % ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи (табл. 5.1).

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено зниження даного показника на 13,7 % відносно контролю, проте ці зміни виявилися не вірогідними ( $p = 0,512$ ). Варто вказати, що ФА нейтрофілів крові у даній когорті тварин на 30,2 % була вірогідно нижчою відносно щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології (рис. 5.1).

Таблиця 5.1 – Зміни показників функціонального стану нейтрофілів крові у щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75])

Показник	Група тварин			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
Суспензія нейтрофілів крові				
Фагоцитарна активність (ФА), %	69,50 (64,00; 71,00)	86,00 (84,00; 95,50)	79,00 (76,00; 81,00)	60,00 (57,00; 64,00)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=38,29$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}<0,001^*$ $p_{1-3}=0,360$ $p_{1-4}=0,512$	$p_{2-3}=0,138$ $p_{2-4}<0,001^*$	$p_{3-4}<0,002^*$	–
Фагоцитарне число (ФЧ)	4,73 (4,40; 4,98)	4,10 (3,89; 4,45)	4,63 (4,35; 4,93)	2,01 (1,73; 2,37)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=31,35$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,256$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,452$ $p_{2-4}=0,020^*$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
Фагоцитарний індекс (ФІ)	6,97 (6,44; 7,42)	4,64 (4,37; 5,02)	6,05 (5,69; 6,25)	3,40 (2,74; 3,79)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=40,72$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}<0,001^*$ $p_{1-3}=0,528$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,127$ $p_{2-4}=0,315$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
Тут і в наступних таблицях розділу: Примітка 1. $p_{1-2}$ , $p_{1-3}$ , $p_{1-4}$ – вірогідність відмінностей між контрольною групою і дослідними групами; $p_{2-3}$ , $p_{2-4}$ – вірогідність відмінностей між групою з пародонтитом без супутньої патології і групою з ГГЦ та групою із пародонтитом на тлі ГГЦ; $p_{3-4}$ – вірогідність відмінностей між групою з ГГЦ і групою з пародонтитом на тлі ГГЦ. Примітка 2. * – статистично значущі результати.				

Щодо фагоцитарного числа (ФЧ), то даний показник у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології вірогідно не змінився відносно контрольної групи.

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено зниження даного показника в 2,4 раза відносно контролю ( $p < 0,001$ ), що в 2,0 раза вірогідно було нижче відносно щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології (рис. 5.1).

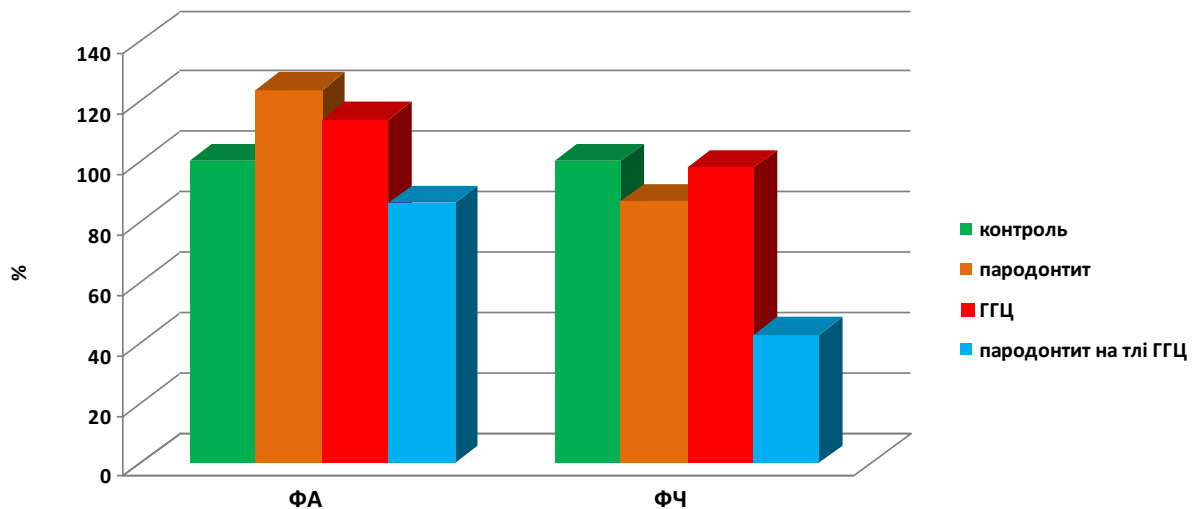


Рисунок 5.1 – Зміни фагоцитарної активності та фагоцитарного числа нейтрофілів крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Фагоцитарний індекс (ФІ) у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології вірогідно зменшився на 33,4 % відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено зниження даного показника на 51,2 % ( $p < 0,001$ ) відносно контролю та на 26,7 % відносно відносно щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології, проте ці зміни виявилися не вірогідними (рис. 5.2).

Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ усі досліджувані показники функціонального стану фагоцитів вірогідно не відрізнялися відносно контрольної групи (див. табл. 5.1).

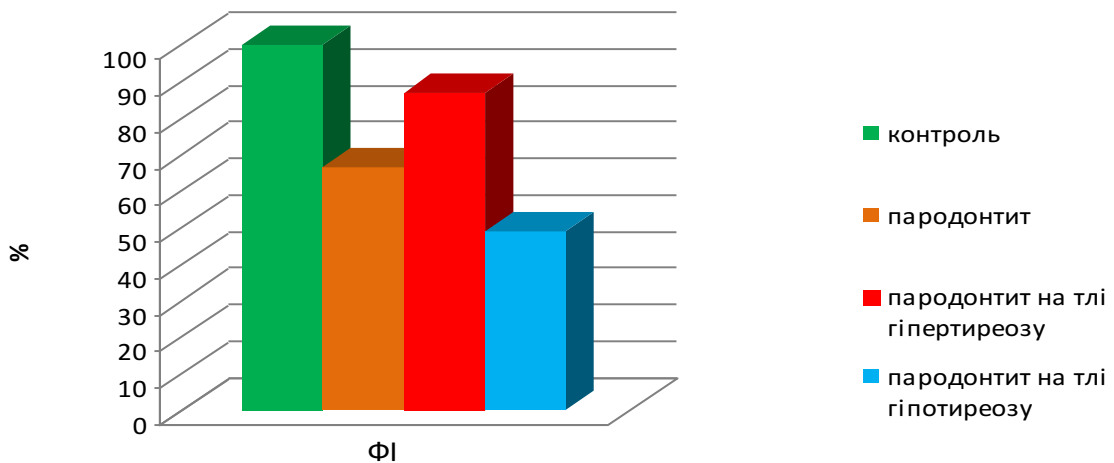


Рисунок 5.2 – Зміни фагоцитарного індексу нейтрофілів крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Аналізуючи кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ та  $H_2S$  у сироватці крові та показниками функціонального стану нейтрофілів крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом встановлено пряму взаємодію помірної сили між рівнем ГЦ та ФА (табл. 5.2). У тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ вірогідних кореляцій між рівнем ГЦ та  $H_2S$  у сироватці крові та показниками функціонального стану нейтрофілів крові не виявлено.

Таблиця 5.2 – Кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ та  $H_2S$  у сироватці крові та показниками функціонального стану нейтрофілів крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
1		2	3	4
ГЦ, мкмоль/л	ФА, %	$r=0,60$ $p=0,041^*$	$r=-0,10$ ; $p=0,748$	$r=0,35$ ; $p=0,271$
	ФІ	$r=-0,28$ ; $p=0,376$	$r=-0,05$ ; $p=0,880$	$r=0,09$ ; $p=0,778$
	ФЧ	$r=-0,53$ ; $p=0,075$	$r=0,10$ ; $p=0,762$	$r=0,04$ ; $p=0,914$



Продовження таблиці 5.2

1		2	3	4
H <sub>2</sub> S, мкмоль/л	ФА, %	r=-0,35 p=0,384	r=0,14; p=0,658	r=-0,31; p=0,319
	ФІ	r=0,42; p=0,304	r=-0,03; p=0,931	r=-0,09; p=0,779
	ФЧ	r=0,51; p=0,066	r=-0,14; p=0,665	r=-0,08; p=0,812
Примітка. * – статистично значущі результати.				

Оксиген-залежна мікробіцидність фагоцитів реалізується за рахунок генерації спектру АФО, при цьому різноманітні цитотоксичні метаболіти оксигену утворюються в ланцюзі перетворень, на початку якого стоїть супероксидний аніон радикал [215]. Для визначення оксиген-залежного механізму бактерицидної активності нейтрофілів крові ми використали тест відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест).

Кількість диформазан-позитивних нейтрофілів крові у спонтанному НСТ-тесті у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом зросла на 25,8 % (p=0,003), а у активованому – на 42,9 % (p=0,001) відносно контрольної групи (табл. 5.3). При цьому коефіцієнт метаболічної активації нейтрофілів крові вірогідно зріс на 44,2 %, а показник резерву клітин вірогідно не змінився відносно контрольної групи.

У тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ кількість диформазан-позитивних нейтрофілів крові у спонтанному НСТ-тесті зросла більш виражено – на 80,6 % (p=0,001) відносно контрольної групи, що на 43,6 % вірогідно переважає дані тварин з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології.

Щодо кількості диформазан-позитивних нейтрофілів крові у активованому НСТ-тесті, то даний показник вірогідно зріс на 58,9 % відносно контролю, але при цьому вірогідно не відрізнявся від даних тварин з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології (рис. 5.3).

Таблиця 5.3 – Зміни показників НСТ-тесту нейтрофілів крові у щурів з пародонтизом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ

Показник	Група тварин			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
Суспензія нейтрофілів крові				
Кількість диформазан-позитивних клітин в активованому тесті (АВ),%	28,00 (25,00; 32,50)	40,00 (36,50; 46,00)	30,00 (29,00; 32,50)	44,50 (40,00; 49,00)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=33,34$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,001^*$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,006^*$ $p_{2-4}=0,999$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
Кількість диформазан-позитивних клітин у спонтанному тесті (СВ), %	15,50 (15,00; 16,00)	19,50 (18,50; 22,00)	19,00 (18,00; 20,00)	28,00 (26,50; 29,50)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=36,67$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,003^*$ $p_{1-3}=0,034^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,007^*$	$p_{3-4}=0,003^*$	–
Коефіцієнт метаболічної активації	27,41 (24,42; 32,03)	39,53 (35,97; 45,58)	29,43 (28,38; 31,92)	43,95 (39,29; 48,42)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=32,36$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,001^*$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,003^*$ $p_{2-4}=0,999$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
Показник резерву (ПР)	1,84 (1,68; 2,10)	2,02 (1,80; 2,19)	1,61 (1,53; 1,74)	1,58 (1,45; 1,68)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=14,00$ ; $p=0,003^*$			
	$p_{1-2}=0,999$ $p_{1-3}=0,138$ $p_{1-4}=0,129$	$p_{2-3}=0,003^*$ $p_{2-4}=0,003^*$	$p_{3-4}=0,999$	–

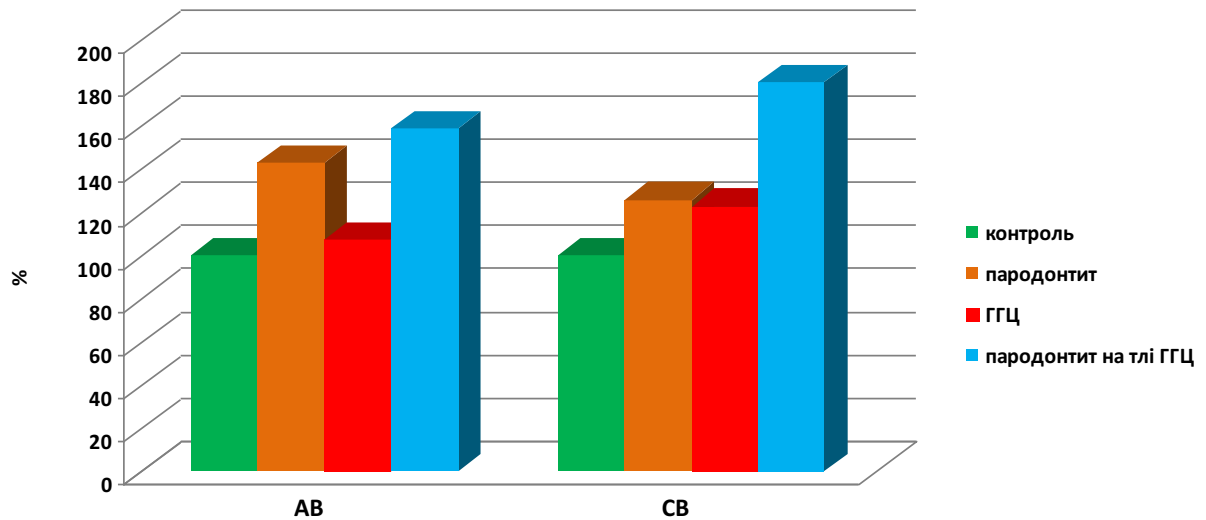


Рисунок 5.3 – Зміни кількості диформазан-позитивних нейтрофілів крові в активованому тесті (AB) та диформазан-позитивних клітин у спонтанному тесті (CB) за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Аналогічна тенденція спостерігалась і відносно коефіцієнта метаболічної активації нейтрофілів крові. Даний показник зріс на 60,3 % ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 11,2 % переважає дані тварин з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології, але ці зміни виявилися невіргодними (рис. 5.4). Показник резерву нейтрофілів крові у тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ зменшився на 14,1 % відносно контрольної групи, проте ці зміни виявилися невіргодними. Водночас показник резерву у даній когорті щурів був вірогідно нижчим на 21,8 % відносно тварин з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології.

Аналізуючи кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ та  $H_2S$  у сироватці крові та показниками НСТ-тесту у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом встановлено пряму взаємодію високої сили між рівнем ГЦ та коефіцієнтом метаболічної активації. У тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено низку вірогідних кореляцій високої та помірної сили як між рівнем ГЦ, так і  $H_2S$  у сироватці крові та показниками НСТ-тесту, що свідчить про асоціацію ГЦ та його метаболіту гідроген сульфід з функціональним станом нейтрофілів крові (табл. 5.4).

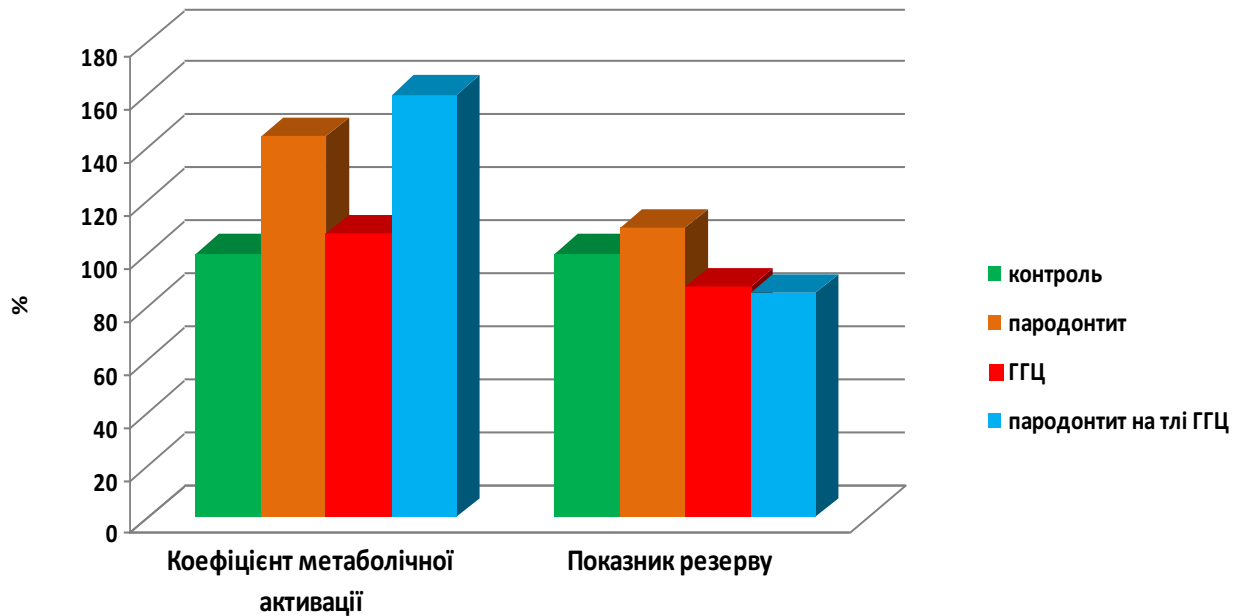


Рисунок 5.4 – Зміни коефіцієнту метаболічної активації та показника резерву нейтрофілів крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Таблиця 5.4 – Кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ у сироватці крові та показниками НСТ-тесту за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
1		2	3	4
ГЦ, мкмоль/л	АВ, %	$r=0,33$ $p=0,227$	$r=0,47$ ; $p=0,122$	$r=-0,86$ ; $p<0,001^*$
	СВ, %	$r=0,08$ ; $p=0,813$	$r=0,46$ ; $p=0,129$	$r=-0,16$ ; $p=0,618$
	Коефіцієнт метаболічної активації	$r=0,73$ ; $p=0,007^*$	$r=0,47$ ; $p=0,122$	$r=0,88$ ; $p<0,001^*$
	Показник резерву	$r=0,35$ ; $p=0,266$	$r=0,02$ ; $p=0,957$	$r=0,76$ ; $p=0,004^*$

Продовження таблиці 5.4

1		2	3	4
H <sub>2</sub> S, мкмоль/л	АВ, %	r=-0,57 p=0,054	r=-0,68; p=0,015*	r=-0,83; p=0,001*
	СВ, %	r=-0,39; p=0,145	r=-0,39; p=0,208	r=-0,01; p=0,974
	Коефіцієнт метаболическої активації	r=-0,53; p=0,077	r=-0,68; p=0,015*	r=-0,83; p=0,001*
	Показник резерву	r=0,02; p=0,940	r=-0,19; p=0,555	r=-0,70; p=0,011*
Примітка. * – статистично значущі результати.				

5.2 Зміни енергозабезпечення та реалізації програмованої клітинної загибелі нейтрофілів крові за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії

АФО, які генеруються фагоцитами, мають ключове значення у захисті організму від чужорідних об'єктів, володіючи мікробіцидною дією. З іншого боку, в силу високої реакційної здатності АФО можуть незворотно пошкоджувати такі біологічно важливі молекули, як ДНК, РНК, протеїни, ліпіди, що призводить до порушення структури і функції біомембран, руйнування різних клітин і тканин [216, 217].

Результати наших досліджень показали, що генерація АФО нейтрофілами крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології збільшилася на 87,9 % (p=0,001) відносно контрольної групи (табл. 5.5).

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс у 2,8 раза (p<0,001) відносно контрольної групи, що на 50,5 % (p=0,008) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. Варто вказати, що у тварин з

ізолюваною хронічною тіолактоновою ГГЦ, генерація АФО нейтрофілами крові збільшилася на 54,8 % ( $p=0,007$ ) відносно контрольної групи та вірогідно не відрізнялася від даних за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 5.5).

Таблиця 5.5 – Показники генерації активних форм оксигену, трансмембранного мітохондріального потенціалу та апоптозу/некрозу у щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії (Me [Q25–Q75])

Показник	Дослідна група			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	1	2	3	4
Суспензія нейтрофілів крові				
Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	16,05 (14,25; 19,40)	30,15 (27,50; 31,85)	24,85 (22,85; 26,60)	45,38 (41,13; 47,00)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=41,38$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,001^*$ $p_{1-3}=0,007^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,272$ $p_{2-4}=0,008^*$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
Кількість клітин із зниженим $\Delta\Psi_m$ , %	1,50 (1,20; 1,70)	2,60 (2,25; 2,80)	2,10 (1,80; 2,30)	3,70 (3,45; 3,95)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=37,42$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,001^*$ $p_{1-3}=0,304$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,504$ $p_{2-4}=0,001^*$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
Кількість ANV <sup>+</sup> -клітин, %	2,20 (1,80; 2,45)	4,55 (4,25; 4,90)	3,40 (3,25; 3,60)	7,80 (7,45; 8,30)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=42,85$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}<0,001^*$ $p_{1-3}=0,247$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,182$ $p_{2-4}=0,001^*$	$p_{3-4}<0,001^*$	–

Продовження таблиці 5.5

	1	2	3	4
Кількість $PI^+$ -клітин, %	1,35 (1,15; 1,65)	2,30 (2,15; 2,35)	1,90 (1,55; 2,00)	3,75 (3,65; 4,15)
Критерій Краскела-Уолліса $H=39,95$ ; $p<0,001^*$				
	$p_{1-2}<0,001^*$ $p_{1-3}=0,653$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,116$ $p_{2-4}=0,001^*$	$p_{3-4}<0,001^*$	—

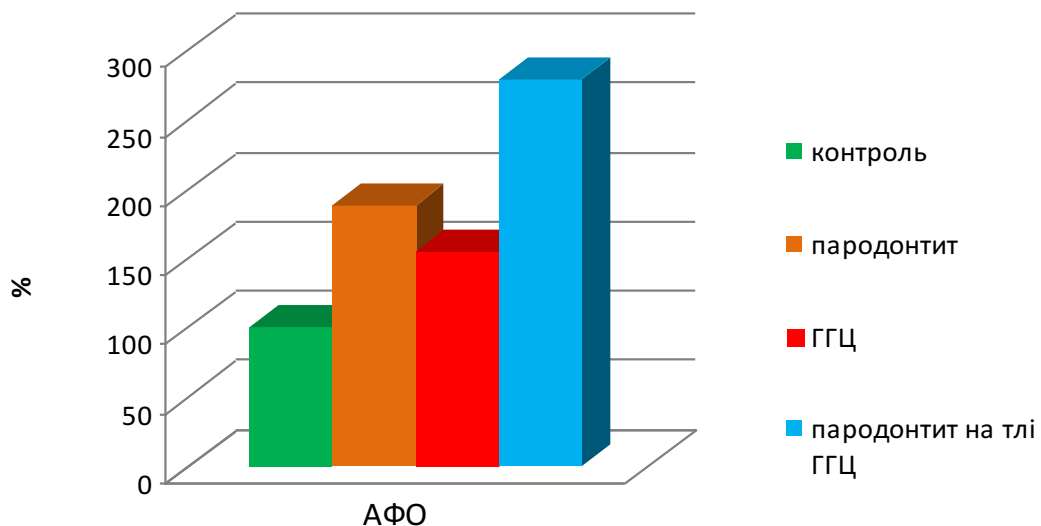


Рисунок 5.5. – Зміни генерації АФО нейтрофілами крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Трансмембранний потенціал ( $\Delta\Psi_m$ ) може характеризувати як функцію мітохондрій, так і стан всієї клітини, адже окрім відомої енергетичної функції, яку раніше вважали основною для мітохондрій, ці органели не лише приймають та координують проапоптотичні сигнали, але і самі виробляють їх [218].

Встановлено, що у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології кількість нейтрофілів крові із зниженим  $\Delta\Psi_m$  збільшилася на 73,3 % ( $p=0,001$ ) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс у 2,5 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 42,3 % ( $p=0,001$ )

перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 5.6). Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, кількість нейтрофілів крові із зниженим  $\Delta\Psi_m$  збільшилася на 40,0 % відносно контрольної групи, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними ( $p=0,304$ ).

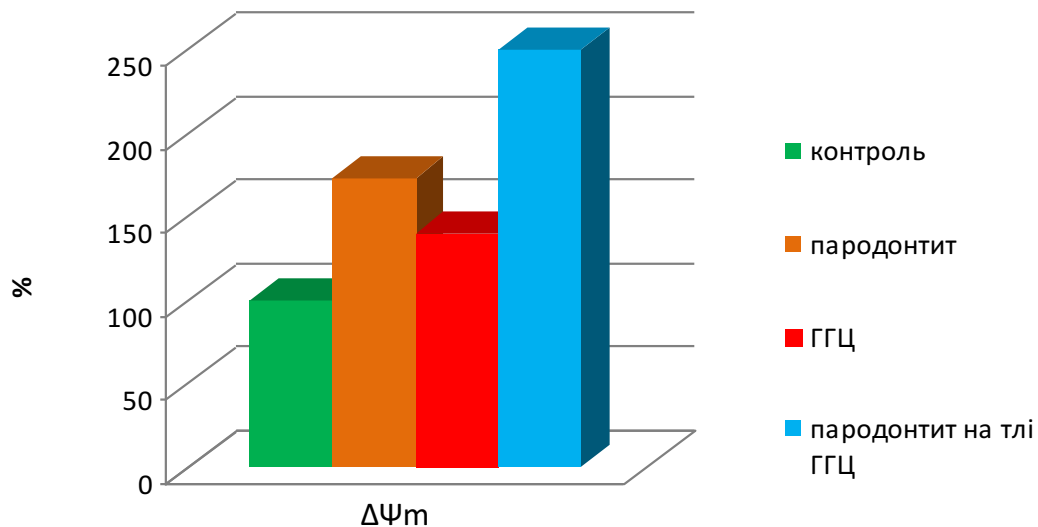


Рисунок 5.6. – Зміни кількості нейтрофілів крові із зниженим  $\Delta\Psi_m$  за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Порушення у структурі та функціонуванні мітохондрій, спричинені дією надмірних кількостей АФО, зумовлюють зсув енергетичного метаболізму в бік зростання інтенсивності гліколізу та пригнічення окисного фосфорилування [219]. Біоенергетичні процеси у суспензії мітохондрій нейтрофілів крові ми оцінювали за сукцинатдегідрогеназною та цитохромоксидазною активністю.

Встановлено, що сукцинатдегідрогеназна активність у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології вірогідно знизилася на 14,3 % відносно контрольної групи (табл. 5.6).

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зменшився на 46,8 % ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 37,9 % ( $p=0,001$ ) нижче даних за умови ЛПС-



індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 5.7). Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, сукцинатдегідрогеназна активність зменшилася на 8,0 % відносно контрольної групи, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними ( $p=0,553$ ).

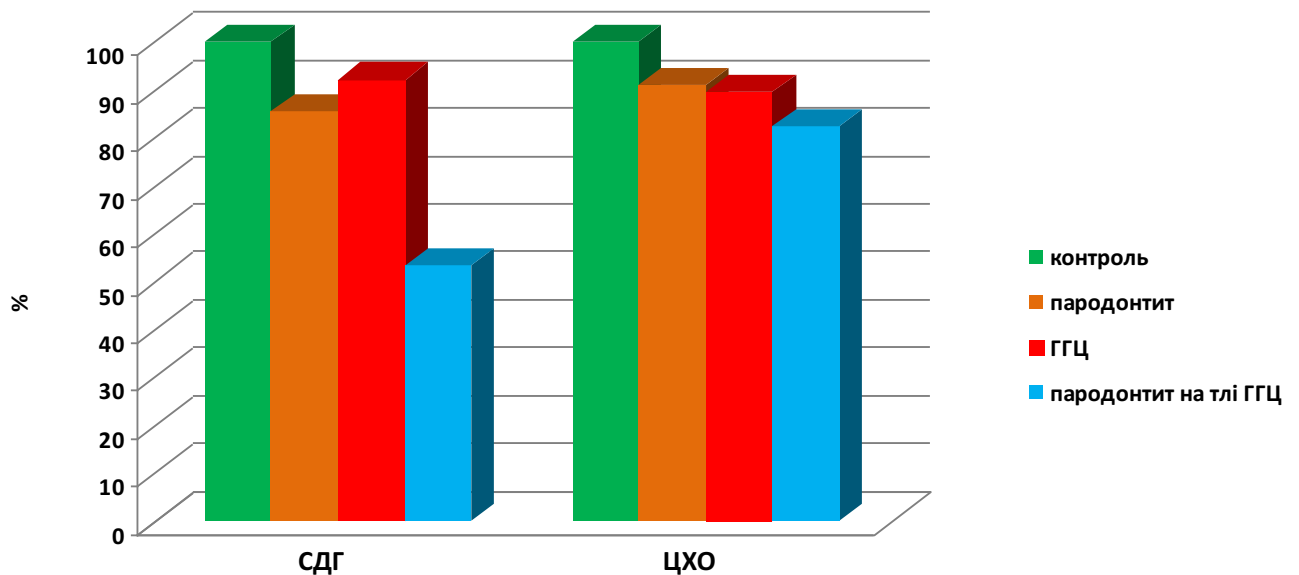
Таблиця 5.6 – Показники енергозабезпечувального окиснення у мітохондріях нейтрофілів крові щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75])

Показник	Група тварин			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
СДГ, нмоль / (мг ×хв)	2,37 (2,20; 2,61)	2,03 (1,71; 2,08)	2,18 (1,87; 2,30)	1,26 (1,12; 1,34)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=35,95$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,007^*$ $p_{1-3}=0,553$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,723$ $p_{2-4}=0,001^*$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
ЦХО, нмоль/ (мг ×хв)	1,92 (1,77; 2,09)	1,75 (1,71; 1,89)	1,72 (1,63; 1,78)	1,58 (1,42; 1,75)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=13,73$ ; $p=0,003^*$			
	$p_{1-2}=0,999$ $p_{1-3}=0,074$ $p_{1-4}=0,003^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,169$	$p_{3-4}=0,999$	–

Щодо цитохромоксидазної активності в мітохондріях нейтрофілів крові, то вірогідні зміни даного показника встановлено лише у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ – зниження на 17,7 % ( $p=0,003$ ).

Гіперпродукція АФО і порушення цілісності зовнішньої мітохондріальної мембрани ініціює запуск апоптотичної загибелі клітин. Результати наших досліджень показали, що у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супут-

ньої патології кількість нейтрофілів крові із ознаками апоптозу збільшилася в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс у 3,5 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 71,4 % ( $p = 0,001$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 5.8). У тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, кількість нейтрофілів крові із ознаками апоптозу збільшилася на 54,5 % відносно контрольної групи, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними ( $p = 0,247$ ).



Рисунк 5.7 – Зміни сукцинатдегідрогеназної та цитохромоксидазної активності у мітохондріях нейтрофілів крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

При дослідженні кількості  $PI^+$ -нейтрофілів крові, які характеризують інтенсивність некротичних процесів, у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом встановлено вірогідне перевищення даних контрольної групи на 70,4 %. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс у 2,8 раза ( $p < 0,001$ ) відносно

контрольної групи, що на 63,0 % ( $p=0,001$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 5.8). Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, кількість нейтрофілів крові із ознаками некрозу збільшилася на 40,7 % відносно контрольної групи, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними ( $p=0,653$ ).

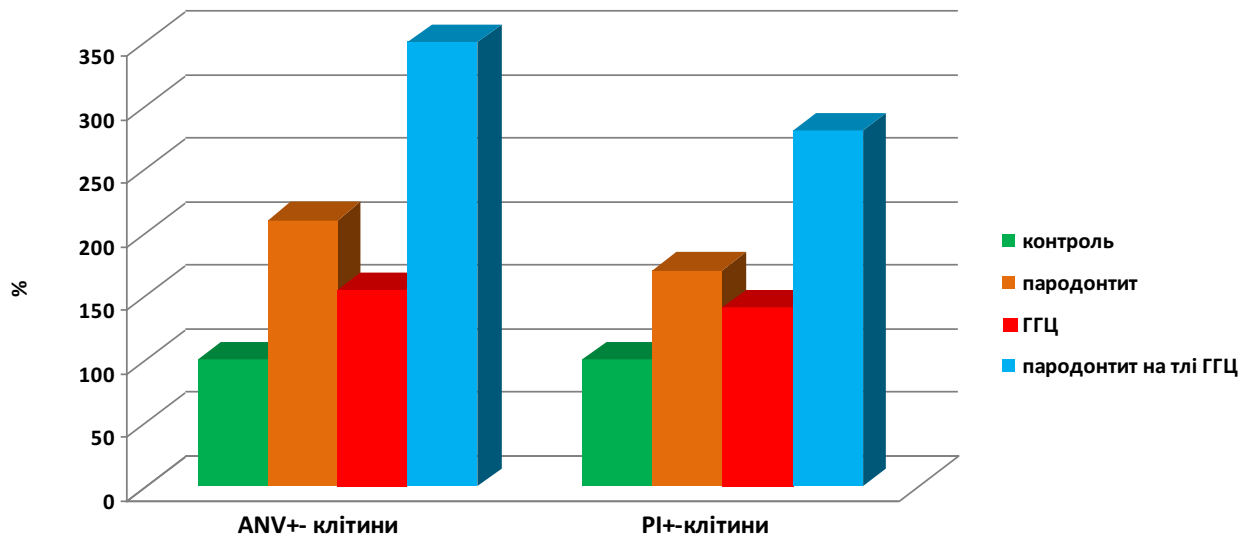


Рисунок 5.8 – Зміни кількості апоптотично- та некротично-змінених нейтрофілів крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Проведений кореляційний аналіз між кількістю ANV<sup>+</sup>-нейтрофілів та кількістю нетрофілів із підвищеною генерацією АФО та кількістю нетрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$  у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології виявив пряму взаємодію високої сили між кількістю ANV<sup>+</sup>-нейтрофілів та кількістю нетрофілів із підвищеною генерацією АФО та пряму взаємодію помірної сили між кількістю ANV<sup>+</sup>-нейтрофілів та кількістю нетрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$  (табл. 5.7). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ обидві вище-вказані кореляційні взаємодії виявилися високої сили. Щодо тварин із ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, то у них кореляційні взаємодії між кількістю

ANV<sup>+</sup>-нейтрофілів та кількістю нетрофілів із підвищеною генерацією АФО та зниженим  $\Delta\Psi_m$  виявилися статистично не вірогідними.

Таблиця 5.7 – Кореляційні зв'язки між кількістю ANV<sup>+</sup>-нейтрофілів та кількістю нетрофілів із підвищеною генерацією АФО, кількістю нетрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$  за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Показник	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %		
Кількість ANV <sup>+</sup> -клітин, %	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	$r=0,82; p=0,001^*$	$r=0,29; p=0,365$	$r=0,83; p=0,001^*$
	Кількість клітин із зниженим $\Delta\Psi_m$ , %		
	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	$r=0,62; p=0,031^*$	$r=0,25; p=0,440$	$r=0,77; p=0,003^*$
Примітка. * – статистично значущі результати.			

Проведений кореляційний аналіз між кількістю PI<sup>+</sup>-нейтрофілів та кількістю ANV<sup>+</sup>-нейтрофілів, кількістю нетрофілів із підвищеною генерацією АФО та кількістю нетрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$  у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології виявив лише одну вірогідну пряму взаємодію помірної сили між кількістю PI<sup>+</sup>-нейтрофілів та кількістю нетрофілів із підвищеною генерацією АФО (табл. 5.8).

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено пряму взаємодію дуже високої сили між кількістю PI<sup>+</sup>-нейтрофілів та кількістю нетрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$ ; пряму взаємодію високої сили між кількістю PI<sup>+</sup>-нейтрофілів та кількістю нетрофілів із підвищеною генерацією АФО; пряму взаємодію помірної сили між кількістю PI<sup>+</sup>-нейтрофілів та кількістю ANV<sup>+</sup>-нейтрофілів. Щодо тварин із ізольованою хронічною тіолактоною ГГЦ, то у них виявлено пряму взаємодію помірної сили між кількістю PI<sup>+</sup>-нейтрофілів та кількістю нетрофілів із підвищеною генерацією АФО.

Таблиця 5.8 – Кореляційні зв'язки між кількістю  $PI^+$ -нейтрофілів та кількістю  $ANV^+$ -нейтрофілів, кількістю нетрофілів із підвищеною генерацією АФО, кількістю нетрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$  за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Показник	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %		
Кількість $PI^+$ - клітин, %	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	$r=0,58; p=0,049^*$	$r=0,64; p=0,024^*$	$r=0,76; p=0,004^*$
	Кількість клітин із зниженим $\Delta\Psi_m$ , %		
	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	$r=0,49; p=0,110$	$r=0,56; p=0,060$	$r=0,91^{\#}; p<0,001^*$
	Кількість $ANV^+$ - клітин, %		
	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	$r=0,38; p=0,217$	$r=0,53; p=0,076$	$r=0,63; p=0,028^*$
Примітка 1. * – статистично значущі результати. Примітка 2. $\#$ – вірогідна різниця коефіцієнтів кореляції, $p<0,05$ (між групою з пародонтитом без супутньої патології та групою із пародонтитом на тлі ГГЦ).			

Аналізуючи кореляційні взаємодії між рівнем ГЦ у сироватці крові та кількістю  $PI^+$ -нейтрофілів, кількістю  $ANV^+$ -нейтрофілів, кількістю нетрофілів із підвищеною генерацією АФО та кількістю нетрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$  встановлено низку вірогідних кореляційних взаємозв'язків у тварин усіх дослідних груп (табл. 5.9). Варто вказати, що у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ вірогідних кореляційних взаємодій виявлено більше, ніж у тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології.

Аналогічна тенденція встановлена і при аналізі кореляційних взаємодій між рівнем гідроген сульфід у сироватці крові та кількістю  $PI^+$ -нейтрофілів,

кількістю ANV<sup>+</sup>-нейтрофілів, кількістю нетрофілів із підвищеною генерацією АФО та кількістю нетрофілів із зниженим ΔΨm (табл. 5.9).

Таблиця 5.9 – Кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ у сироватці крові та кількістю PI<sup>+</sup>-нейтрофілів, кількістю ANV<sup>+</sup>-нейтрофілів, кількістю нетрофілів із підвищеною генерацією АФО, кількістю нетрофілів із зниженим ΔΨm за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГЦ	Пародонтит на тлі ГЦ
ГЦ, мкмоль/л	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	r=0,76; p=0,004*	r=0,58; p=0,047*	r=0,82; p=0,001*
	Кількість клітин із зниженим ΔΨm, %	r=0,62; p=0,032*	r=0,59; p=0,044*	r=0,65; p=0,022*
	Кількість ANV <sup>+</sup> -клітин, %	r=0,56; p=0,057	r=0,79; p=0,002*	r=0,65; p=0,022*
	Кількість PI <sup>+</sup> -літин, %	r=0,51; p=0,065	r=0,69; p=0,013*	r=0,66; p=0,020*
H <sub>2</sub> S, мкмоль/л	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	r=-0,56; p=0,057	r=-0,51; p=0,091	r=-0,72; p=0,009*
	Кількість клітин із зниженим ΔΨm, %	r=-0,62; p=0,032*	r=-0,73; p=0,007*	r=-0,78; p=0,003*
	Кількість ANV <sup>+</sup> -клітин, %	r=-0,72; p=0,008*	r=-0,60; p=0,038*	r=-0,73; p=0,008*
	Кількість PI <sup>+</sup> -клітин, %	r=-0,38; p=0,219	r=-0,61; p=0,034*	r=-0,70; p=0,012*
Примітка. * – статистично значущі результати.				

На основі наведених у розділі 5 результатів можна зробити такі проміжні висновки:

1. ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується підвищенням фагоцитарної активності нейтрофілів крові з одночасним зменшенням їх поглинаючої здатності. Підвищення показників спонтанного та активованого НСТ-тесту за умови пародонтиту вказують на активацію оксиген-залежних механізмів мікробіцидності нейтрофілів крові. ГГЦ негативно впливає на функціональну та метаболічну активність фагоцитів за умови пародонтиту, що підтверджується порушенням процесу фагоцитозу, більш вираженим зменшенням поглинаючої здатності нейтрофілів крові та виснаженням резервів цих клітин.

2. ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується гіперпродукцією АФО (на 87,9 %;  $p=0,001$ ) і зниженням  $\Delta\Psi_m$  (на 73,3 %;  $p=0,001$ ), наслідком чого є порушення цілісності зовнішньої мітохондріальної мембрани та запуск апоптотичної загибелі нейтрофілів крові. Проведений кореляційний аналіз свідчить про вірогідний взаємозв'язок між кількістю ANV<sup>+</sup>- клітин, кількістю клітин із підвищеною генерацією АФО та кількістю клітин із зниженим  $\Delta\Psi_m$ , що вказує на мітохондріальний шлях ініціації апоптозу нейтрофілів крові, як за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, так і за умови поєднання пародонтиту та хронічної тіолактонової ГГЦ.

3. ГГЦ посилює ініціацію програмованої загибелі клітин, що підтверджується вірогідним переважанням кількості нейтрофілів крові з ознаками апоптозу на 71,4 % у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі ГГЦ відносно ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології та наявністю вірогідних кореляційних взаємодій між рівнем ГЦ у сироватці крові та кількістю ANV<sup>+</sup>/PI<sup>+</sup>- клітин ( $r=0,65$ ;  $p=0,022$  і  $r=0,66$ ;  $p=0,020$  відповідно), кількістю нейтрофілів із підвищеною генерацією АФО ( $r=0,82$ ;  $p=0,001$ ) та

кількістю нетрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$  ( $r=0,65$ ;  $p=0,022$ ) за умови поєднаної патології.

4. Моделювання ЛПС-індукованого пародонтиту у щурів на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ супроводжується більш вираженим інгібуванням процесів енергозабезпечувального окиснення у нейтрофілах крові відносно ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, на що вказують нижчі значення сукцинатдегідрогеназної активності (на 37,9 %;  $p=0,001$ ) у мітохондріях нейтрофілів крові за умови поєднаної патології.

Результати розділу опубліковані у наукових працях автора [220-223].



**РОЗДІЛ 6**  
**ОСОБЛИВОСТІ ПОКАЗНИКІВ ДЕСТРУКЦІЇ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ**  
**ТА КІСТКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ У ЩУРІВ ЗА УМОВИ**  
**ЛІПОПОЛІСАХАРИД-ІНДУКОВАНОГО ЗАПАЛЕННЯ У ТКАНИНАХ**  
**ПАРОДОНТА БЕЗ СУПУТНЬОЇ ПАТОЛОГІЇ І НА ТЛІ ХРОНІЧНОЇ**  
**ТІОЛАКТОНОВОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ**

6.1 Особливості показників деструкції сполучної тканини та кальцій-фосфорного обміну за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на хронічній тіолактонової гіпергомоцистеїнемії

Розвиток деструктивних змін у тканинах пародонта й альвеолярній кістці при пародонтиті зумовлений рівнем порушення метаболізму в їх органічному та мінеральному компонентах. Є дані, що динаміка патологічних змін при пародонтиті визначається рівнем порушення метаболізму сполучної тканини, станом синтетичної активності остеобластів, а також ступенем порушення кальцій-фосфорного обміну [224].

Результати наших досліджень показали, що активність колагенолізу у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вірогідно зросла на 80,0 % відносно контрольної групи (табл. 6.1). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс в 4,5 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що в 2,5 раза ( $p = 0,009$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 6.1).

Про активацію колагенолізу свідчить і підвищення вмісту вільного оксипроліну. Так, даний показник у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вірогідно зріс на 93,2 % відносно контрольної групи.

Таблиця 6.1 – Показники деструкції сполучної тканини у сироватці крові щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75])

Показник	Дослідна група			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
Колагено-літична активність, мкмоль/л×год	6,25 (5,80; 6,90)	11,25 (10,55; 12,45)	8,70 (7,95; 9,75)	28,33 (24,86; 29,65)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=43,75; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> <0,001* p <sub>1-3</sub> =0,193 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,265 p <sub>2-4</sub> =0,009*	p <sub>3-4</sub> <0,001*	–
Вільний оксипролін, мкмоль/л	11,80 (11,55; 12,70)	22,80 (19,80; 23,30)	14,45 (13,60; 15,00)	41,35 (39,85; 42,00)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=42,65; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> <0,001* p <sub>1-3</sub> =0,512 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,132 p <sub>2-4</sub> =0,003	p <sub>3-4</sub> <0,001*	–
ГАГ, мкмоль/л	42,15 (37,95; 45,65)	76,24 (68,68; 81,73)	54,85 (50,85; 58,20)	123,25 (121,45; 139,80)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=42,95; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> <0,001* p <sub>1-3</sub> =0,424 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,148 p <sub>2-4</sub> =0,007*	p <sub>3-4</sub> <0,001*	–
Фукоза, мкмоль/л	82,01 (73,78; 88,78)	238,90 (192,55; 253,06)	93,34 (90,27; 100,38)	404,10 (350,90; 423,75)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=42,16; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> <0,001* p <sub>1-3</sub> =0,692 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,109 p <sub>2-4</sub> =0,215	p <sub>3-4</sub> <0,001*	
Сіалові кислоти, ммоль/л	2,92 (2,62; 3,07)	7,31 (7,12; 7,51)	4,55 (3,70; 5,75)	12,10 (11,30; 13,20)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=42,12; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> <0,001* p <sub>1-3</sub> =0,397 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,182 p <sub>2-4</sub> =0,008*	p <sub>3-4</sub> <0,001*	

Тут і в наступних таблицях розділу:

Примітка 1. p<sub>1-2</sub>, p<sub>1-3</sub>, p<sub>1-4</sub> – вірогідність відмінностей між контрольною групою і дослідними групами; p<sub>2-3</sub>, p<sub>2-4</sub> – вірогідність відмінностей між групою з пародонтитом без супутньої патології і групою з ГГЦ та групою із пародонтитом на тлі ГГЦ; p<sub>3-4</sub> – вірогідність відмінностей між групою з ГГЦ і групою з пародонтитом на тлі ГГЦ.

Примітка 2. \* – статистично значущі результати.

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ вміст вільного оксипроліну зріс в 3,5 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 81,4 % ( $p = 0,003$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 6.1).

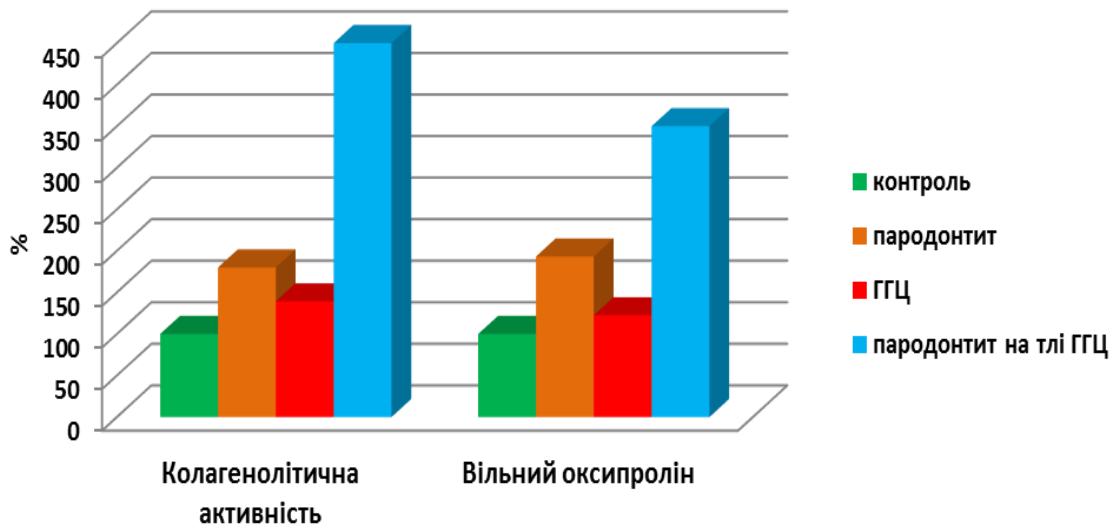


Рисунок 6.1 – Зміни колагенолітичної активності та вмісту вільного оксипроліну у сироватці крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ колагенолітична активність сироватки крові зросла на 39,2 %, а вміст вільного оксипроліну – на 22,5 % відносно контрольної групи, проте ці зміни виявилися статистично не вірогідними.

Глікопротеїни та протеоглікани є основними протеїнами сполучної тканини пародонта. Маркером розпаду протеогліканів можна вважати вміст ГАГ у сироватці крові [225]. У сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом даний показник збільшився на 80,9 % ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс в 2,9 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 61,7 % ( $p = 0,007$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології.

У тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ вміст ГАГ у сироватці крові зріс на 30,1 %, проте ці зміни виявилися статистично не вірогідними (рис. 6.2).

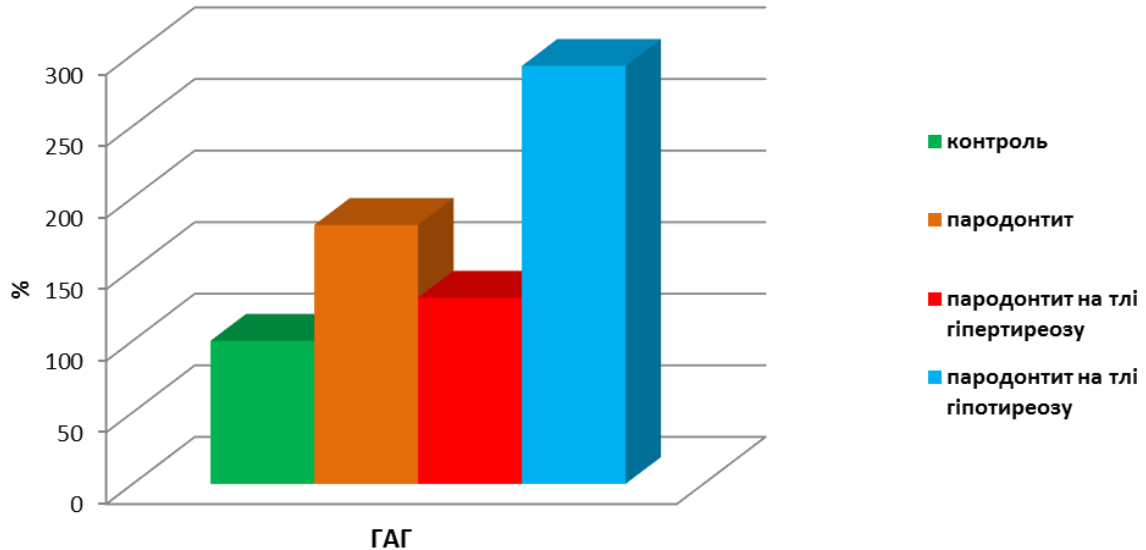


Рисунок 6.2 – Зміни вмісту ГАГ у сироватці крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Про ступінь деструкції глікопротеїнів судили за вмістом у сироватці крові сіалових кислот та фукози, не зв'язаної з протеїнами. Встановлено, що вміст фукози, не зв'язаної з протеїнами, у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом збільшився в 2,9 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс в 4,9 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 69,2 % перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними ( $p = 0,215$ ).

Щодо сіалових кислот, то даний показник у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом збільшився в 2,5 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи (рис. 6.3). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс в 4,1 раза ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 65,5 % ( $p = 0,008$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології.

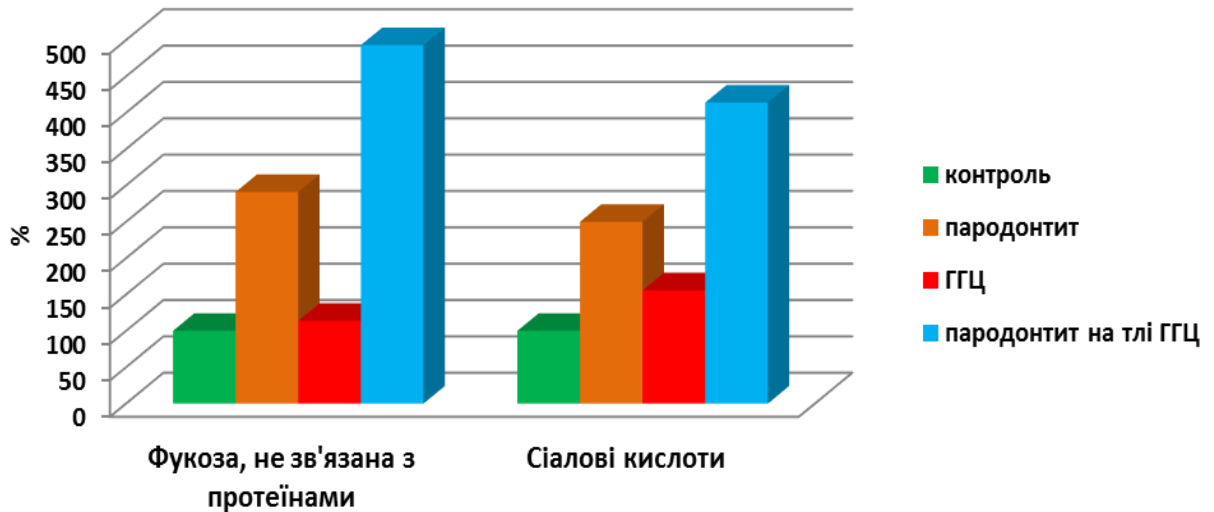


Рисунок 6.3 – Зміни вмісту фукози, не зв'язаної з протеїнами та сіалових кислот у сироватці крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

У тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ вміст у сироватці крові сіалових кислот та фукози, не зв'язаної з протеїнами вірогідно не змінився відносно контрольної групи.

Аналізуючи кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ у сироватці крові та показниками деструкції сполучної тканини у щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом встановлено пряму взаємодію високої сили з вмістом ГАГ та сіалових кислот (табл. 6.2).

Аналізуючи кореляційні зв'язки між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та показниками деструкції сполучної тканини у щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом встановлено зворотню взаємодію високої сили з вмістом вільного оксипроліну (табл. 6.3).

У тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено низку вірогідних прямих взаємодій високої та помірної сили між рівнем ГЦ у сироватці крові та досліджуваними показниками деструкції сполучної тканини (табл. 6.2). Так, встановлено пряму кореляційну взаємодію високої сили між рівнем ГЦ та вмістом сіалових кислот та вільного

оксипроліну; пряму кореляційну взаємодію помірної сили між рівнем ГЦ та вмістом ГАГ і колагенолітичною активністю.

Таблиця 6.2 – Кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ у сироватці крові та показниками деструкції сполучної тканини у сироватці крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ГЦ, мкмоль/л	Колагенолітична активність, мкмоль/л×год	$r=0,36$ ; $p=0,254$	$r=0,49$ ; $p=0,103$	$r=0,66$ ; $p=0,019^*$
	Вільний оксипролін, мкмоль/л	$r=0,39$ ; $p=0,209$	$r=0,58$ ; $p=0,047^*$	$r=0,76$ ; $p=0,004^*$
	ГАГ, мкмоль/л	$r=0,77$ ; $p=0,004^*$	$r=0,65$ ; $p=0,023^*$	$r=0,63$ ; $p=0,028^*$
	Фукоза, мкмоль/л	$r=0,30$ ; $p=0,337$	$r=0,61$ ; $p=0,035^*$	$r=0,54$ ; $p=0,225$
	Сіалові кислоти, ммоль/л	$r=0,77$ ; $p=0,004^*$	$r=0,61$ ; $p=0,037^*$	$r=0,85$ ; $p=0,001^*$
Примітка. * – статистично значущі результати.				

Аналізуючи кореляційні зв'язки між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та показниками деструкції сполучної тканини у щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено зворотню взаємодію високої сили з вмістом вільного оксипроліну, фукози, не зв'язаної з протеїнами та сіалових кислот (див. табл. 6.3).

Мінеральний дисбаланс, який проявляється у змінах вмісту важливих макро- і мікроелементів у різних середовищах організму, відіграє значну роль у ремоделюванні тканин пародонта. Встановлено, що вміст загального кальцію у

сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом збільшився на 10,9 % ( $p=0,035$ ) відносно контрольної групи (табл. 6.4).

Таблиця 6.3 – Кореляційні зв'язки між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та показниками деструкції сполучної тканини у сироватці крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
$H_2S$ , мкмоль/л	Колагенолітична активність, мкмоль/л×год	$r=-0,20$ ; $p=0,542$	$r=-0,60$ ; $p=0,037^*$	$r=-0,56$ ; $p=0,050$
	Вільний оксипролін, мкмоль/л	$r=-0,72$ ; $p=0,009^*$	$r=-0,55$ ; $p=0,061$	$r=-0,79$ ; $p=0,002^*$
	ГАГ, мкмоль/л	$r=-0,56$ ; $p=0,060$	$r=-0,58$ ; $p=0,046^*$	$r=-0,41$ ; $p=0,190$
	Фукоза, мкмоль/л	$r=-0,32$ ; $p=0,317$	$r=-0,72$ ; $p=0,008^*$	$r=-0,71$ ; $p=0,010^*$
	Сіалові кислоти, ммоль/л	$r=-0,43$ ; $p=0,160$	$r=-0,66$ ; $p=0,020^*$	$r=-0,73$ ; $p=0,007^*$
Примітка. * – статистично значущі результати.				

Щодо вмісту неорганічного фосфату, то даний показник у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вірогідно не відрізнявся відносно контролю.

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс на 26,1 % ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 13,6 % ( $p=0,042$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 6.4).

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зріс на 50,0 % ( $p<0,001$ ) відносно

контрольної групи, що на 23,8 % перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, проте ці зміни виявилися статистично не вірогідними (рис. 6.4).

Таблиця 6.4 – Показники обміну кальцію і фосфору у сироватці крові щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Me [Q25–Q75])

Показник	Дослідна група			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
Кальцій загальний, ммоль/л	2,38 (2,25; 2,49)	2,64 (2,54; 2,80)	2,54 (2,47; 2,68)	3,00 (2,88; 3,12)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=30,46$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,035^*$ $p_{1-3}=0,239$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,042^*$	$p_{3-4}=0,004^*$	–
Неорганічний фосфат, ммоль/л	1,32 (1,17; 1,42)	1,60 (1,47; 1,77)	1,56 (1,49; 1,60)	1,98 (1,83; 2,01)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=24,45$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,064$ $p_{1-3}=0,203$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,107$	$p_{3-4}=0,031^*$	–

Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ вміст загального кальцію та неорганічного фосфату у сироватці крові не зазнали вірогідних змін відносно контрольної групи.

Аналізуючи кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ та  $H_2S$  у сироватці крові та показниками обміну кальцію і фосфору у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом встановлено пряму взаємодію середньої сили між рівнем ГЦ та вмістом загального кальцію (табл. 6.5). У тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено пряму взаємодію



високої сили між рівнем ГЦ і вмістом загального кальцію та зворотною взаємодією помірної сили між рівнем  $H_2S$  і вмістом загального кальцію (табл. 6.5).

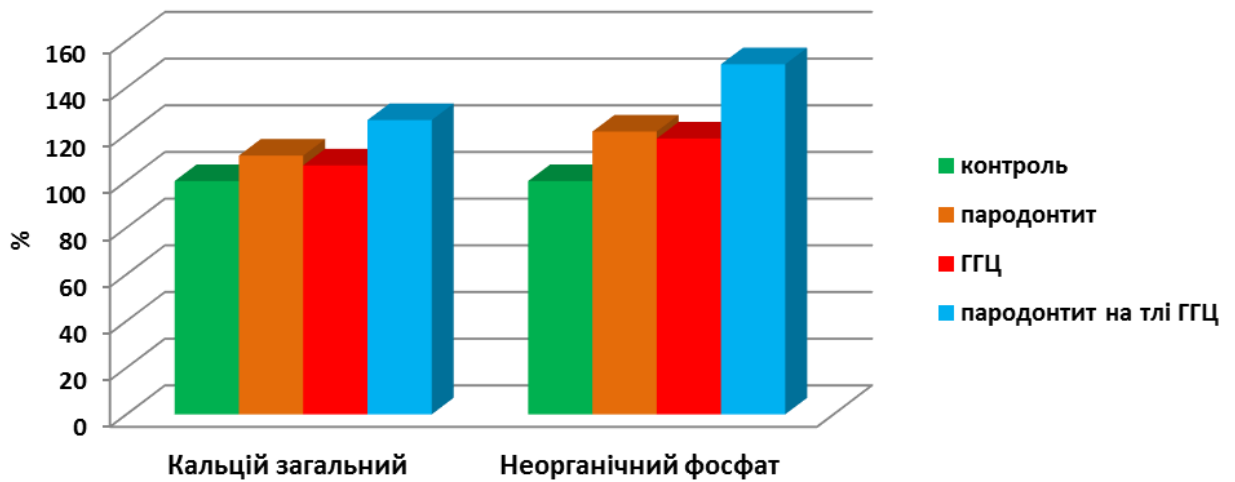


Рисунок 6.4 – Зміни вмісту загального кальцію та неорганічного фосфату у сироватці крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Таблиця 6.5 – Кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ та  $H_2S$  у сироватці крові та показниками обміну кальцію і фосфору у сироватці крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ГЦ, мкмоль/л	Кальцій загальний, ммоль/л	$r=0,59$ ; $p=0,043^*$	$r=0,51$ ; $p=0,089$	$r=0,74$ ; $p=0,006^*$
	Неорганічний фосфат, ммоль/л	$r=-0,02$ ; $p=0,957$	$r=-0,25$ ; $p=0,425$	$r=0,39$ ; $p=0,207$
$H_2S$ , мкмоль/л	Кальцій загальний, ммоль/л	$r=-0,37$ ; $p=0,234$	$r=-0,62$ ; $p=0,033^*$	$r=-0,62$ ; $p=0,033^*$
	Неорганічний фосфат, ммоль/л	$r=-0,36$ ; $p=0,248$	$r=0,40$ ; $p=0,203$	$r=-0,18$ ; $p=0,585$

Примітка. \* – статистично значущі результати.

6.2 Особливості показників кісткового метаболізму за умови ліпополісахарид-індукованого запалення у тканинах пародонта без супутньої патології і на хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії

Кісткова тканина – це динамічна система, в якій проходять процеси руйнування старої кістки – кісткова резорбція (опосередкована остеокластами) і на її місці утворення нової кістки – кісткоутворення (опосередковане остеобластами). Таке кісткове ремоделювання знаходиться під контролем великої кількості системних і місцевих факторів та забезпечує усунення мікропошкоджень у кістковому матриксі, зберігає кісткову мікроархітектуру і підтримує кісткову міцність [226-228].

Стан кісткового метаболізму ми визначали за активністю фосфатаз: лужної (ЛФ) як маркера функціонування остеобластів та кислій (КФ) як маркера інтенсифікації діяльності остеокластів (табл. 6.6). Результати наших досліджень показали, що активність ЛФ у сироватці крові щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом зменшилася на 22,1 % відносно контрольної групи, проте ці зміни виявилися статистично не вірогідними ( $p=0,091$ ). У тварин з ізольованою хронічною тіолактоною ГГЦ встановлено збільшення активності даного показника у сироватці крові на 94,6 % ( $p=0,001$ ) відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник у сироватці крові зріс на 22,1 % ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 56,7 % ( $p=0,005$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології.

При дослідженні активності ЛФ у гомогенаті пародонта встановлено, що у щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом даний показник вірогідно зменшився на 40,1 % відносно контрольної групи (рис. 6.5). У тварин з ізольованою хронічною тіолактоною ГГЦ активність ЛФ у гомогенаті пародонта вірогідно не змінилася відносно контрольної групи.

Таблиця 6.6 – Показники кісткового метаболізму у сироватці крові щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75])

Показник	Дослідна група			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ЛФ, мккат/л	12,90 (12,15; 13,55)	10,05 (9,50; 10,85)	25,10 (24,15; 28,40)	15,75 (13,35; 16,65)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=41,79$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,091$ $p_{1-3}=0,001^*$ $p_{1-4}=0,893$	$p_{2-3}<0,001^*$ $p_{2-4}=0,005^*$	$p_{3-4}=0,091$	–
КФ, мккат/л	5,77 (5,42; 6,24)	9,40 (8,00; 9,75)	15,00 (12,55; 15,60)	24,33 (20,86; 25,54)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=44,09$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,215$ $p_{1-3}<0,001^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,215$ $p_{2-4}<0,001^*$	$p_{3-4}=0,215$	–
ІМ, (ЛФ/КФ)	2,24 (2,10; 2,33)	1,13 (1,04; 1,26)	1,65 (1,61; 2,07)	0,65 (0,59; 0,69)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=41,51$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,001^*$ $p_{1-3}=0,970$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,082$ $p_{2-4}=0,230$	$p_{3-4}<0,001^*$	–

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник у гомогенаті пародонта зменшився в 3,5 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 52,7 % ( $p=0,006$ ) нижче даних за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології.

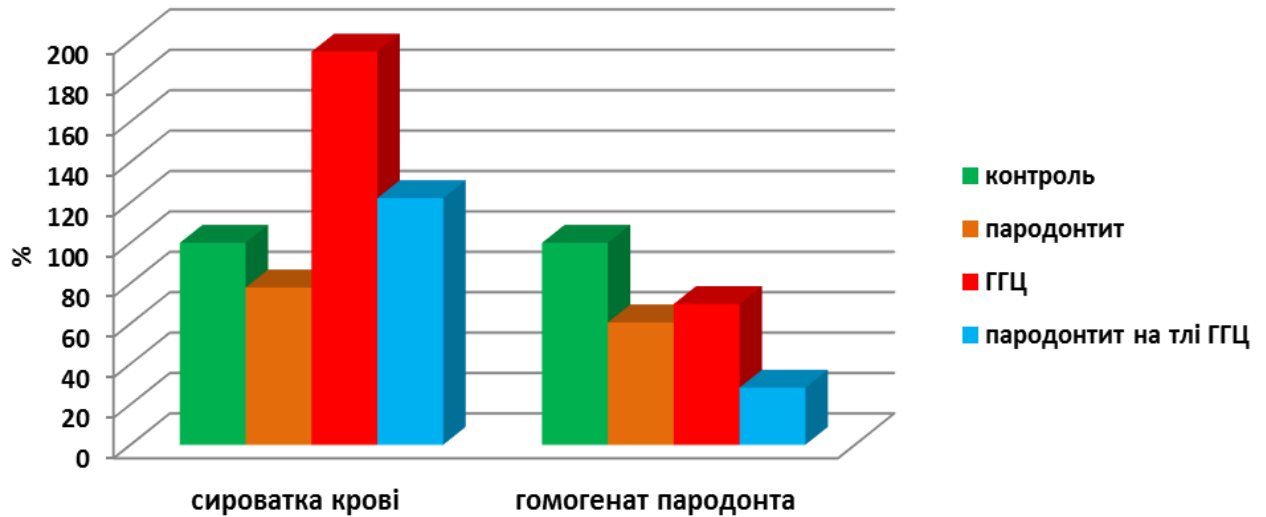


Рисунок 6.5 – Зміни активності ЛФ у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Щодо активності КФ, то у сироватці крові щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом даний показник збільшився на 62,9 %, проте ці зміни виявилися статистично не вірогідними ( $p=0,215$ ) (рис. 6.6). У тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ встановлено збільшення активності КФ у сироватці крові в 2,6 раза ( $p<0,001$ ). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник у сироватці крові зріс в 4,2 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що в 2,6 раза ( $p<0,001$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології.

Результати досліджень активності КФ у гомогенаті пародонта засвідчили, що у щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом даний показник вірогідно зріс в 2,0 рази відносно контрольної групи (табл. 6.7; рис. 6.6). У тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ активність КФ у гомогенаті пародонта вірогідно не змінилася відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник у гомогенаті пародонта збільшився в 4,6 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що в 2,2 раза ( $p=0,007$ ) перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології.

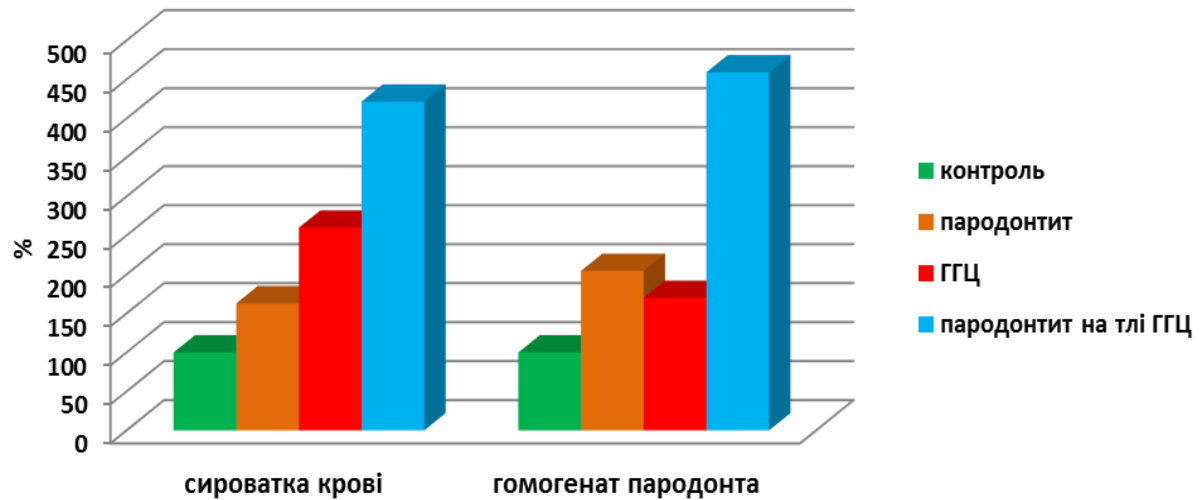


Рисунок 6.6 – Зміни активності КФ у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Таблиця 6.7 – Показники кісткового метаболізму у гомогенаті парадонта щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75])

Показник	Дослідна група			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	1	2	3	4
ЛФ, мккат/кг	7,10 (6,60; 7,90)	4,25 (3,70; 4,95)	4,95 (4,75; 5,30)	2,01 (1,82; 2,17)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=40,75; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> =0,001* p <sub>1-3</sub> =0,070 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,999 p <sub>2-4</sub> =0,006*	p <sub>3-4</sub> =0,001*	—
КФ, мккат/кг	4,18 (3,95; 4,23)	8,55 (8,00; 9,20)	7,10 (6,35; 8,15)	19,19 (15,88; 20,11)
	Критерій Краскела-Уолліса Н=43,12; p<0,001*			
	p <sub>1-2</sub> <0,001* p <sub>1-3</sub> =0,157 p <sub>1-4</sub> <0,001*	p <sub>2-3</sub> =0,384 p <sub>2-4</sub> =0,007*	p <sub>3-4</sub> <0,001*	—

Продовження таблиці 6.7

	1	2	3	4
ІМ, (ЛФ/КФ)	1,74 (1,67; 1,85)	0,50 (0,47; 0,56)	0,71 (0,67; 0,80)	0,11 (0,10; 0,14)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=43,27$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}<0,001^*$ $p_{1-3}=0,166$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,348$ $p_{2-4}<0,001^*$	$p_{3-4}<0,001^*$	—

Важливим показником, що характеризує стан кісткової тканини, є відношення активності ЛФ до активності КФ, яке визначають як індекс мінералізації (ІМ). Результати наших досліджень показали, що ІМ у сироватці крові щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом вірогідно зменшився на 49,6 % відносно контрольної групи (рис. 6.7). У тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ встановлено зменшення ІМ у сироватці крові на 26,3 %, проте ці зміни виявилися статистично не вірогідними ( $p=0,970$ ). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник у сироватці крові зменшився в 3,4 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що на 42,5 % нижче даних за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, проте ці зміни виявилися статистично не вірогідними ( $p=0,230$ ).

Щодо змін ІМ у гомогенаті пародонта, то у щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом даний показник зменшився в 3,5 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи (див. табл. 6.7). У тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ ІМ у гомогенаті пародонта вірогідно не відрізнявся від даних контролю. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ІМ у гомогенаті пародонта зменшився в 15,8 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи, що в 4,5 раза ( $p<0,001$ ) нижче даних за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології (рис. 6.7). Отже, при

ЛПС-індукованому пародонтиті й, особливо, при розвитку пародонтиту на тлі ГГЦ, інтенсивність процесів остеорезорбції в пародонті різко перевищує інтенсивність остеосинтезу.

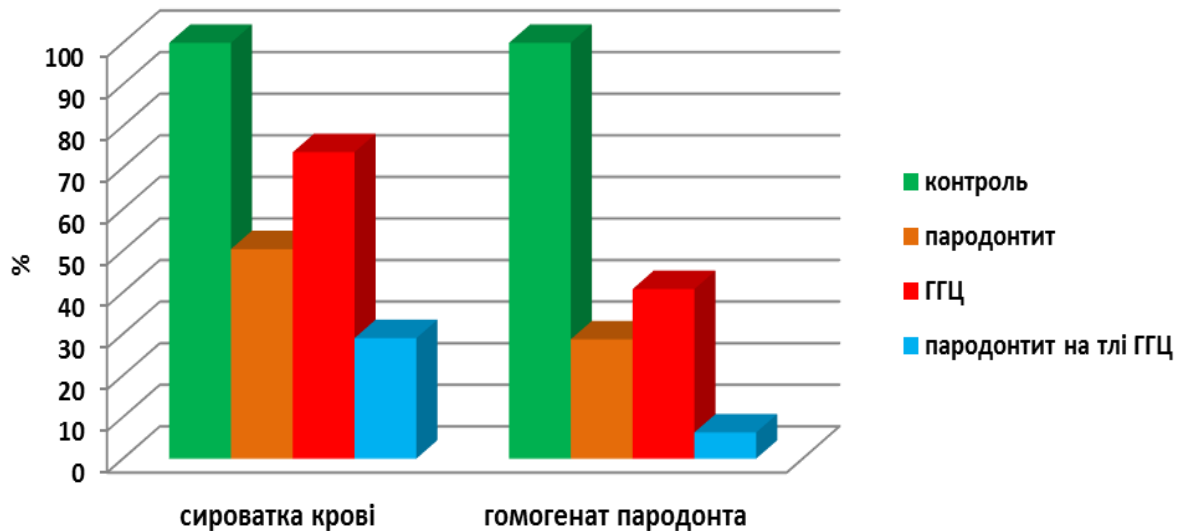


Рисунок 6.7 – Зміни ІМ у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ у відсотках

Аналізуючи кореляційні взаємодії між рівнем ГЦ у сироватці крові та показниками кісткового метаболізму встановлено відсутність вірогідних взаємозв'язків у тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології (табл. 6.8).

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено пряму кореляційну взаємодію високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові і активністю КФ у сироватці крові та пряму кореляційну взаємодію помірної сили між рівнем ГЦ у сироватці крові і активністю КФ у гомогенаті пародонта (табл. 6.8).

Особливу цікавість викликає наявність вірогідних прямих кореляційних взаємодій високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові та активністю КФ у сироватці крові, гомогенаті пародонта та ІМ у сироватці крові у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ (табл. 6.8).

Таблиця 6.8 – Кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ у сироватці крові та показниками кісткового метаболізму за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ГЦ, мкмоль/л	ЛФ, мккат/л (сироватка крові)	$r=-0,49$ ; $p=0,105$	$r=0,01$ ; $p=0,974$	$r=0,20$ ; $p=0,533$
	ЛФ, мккат/кг (гомогенат пародонта)	$r=-0,19$ ; $p=0,564$	$r=-0,08$ ; $p=0,814$	$r=-0,10$ ; $p=0,755$
	КФ, мккат/л (сироватка крові)	$r=0,10$ ; $p=0,765$	$r=0,89$ ; $p<0,001^*$	$r=0,89$ ; $p<0,001^*$
	КФ, мккат/кг (гомогенат пародонта)	$r=0,25$ ; $p=0,428$	$r=0,75$ ; $p=0,005^*$	$r=0,66$ ; $p=0,019^*$
	ІМ (сироватка крові)	$r=-0,32$ ; $p=0,305$	$r=-0,71$ ; $p=0,010^*$	$r=-0,51$ ; $p=0,092$
	ІМ (гомогенат пародонта)	$r=-0,31$ ; $p=0,327$	$r=-0,47$ ; $p=0,123$	$r=-0,32$ ; $p=0,313$
Примітка. * – статистично значущі результати.				

Аналізуючи кореляційні взаємодії між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та показниками кісткового метаболізму у тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології встановлено вірогідний прямий кореляційний взаємозв'язок помірної сили між рівнем  $H_2S$  у сироватці крові та активністю ЛФ у сироватці крові (табл. 6.9). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено пряму кореляційну взаємодію високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові і активністю КФ у сироватці крові та пряму кореляційну взаємодію помірної сили між рівнем ГЦ у сироватці крові і активністю КФ у гомогенаті пародонта.



Таблиця 6.9 – Кореляційні зв'язки між рівнем гідроген сульфїду у сироватці крові та показниками кісткового метаболїзму за умови пародонтиту на тлі хронїчної тїолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
H <sub>2</sub> S, мкмоль/л	ЛФ, мккат/л (сироватка крові)	r=0,61; p=0,037*	r=-0,14; p=0,655	r=0,09; p=0,778
	ЛФ, мккат/кг (гомогенат пародонта)	r=0,03; p=0,935	r=0,15; p=0,632	r=-0,32; p=0,314
	КФ, мккат/л (сироватка крові)	r=-0,24; p=0,451	r=-0,87; p<0,001*	r=-0,63; p=0,028*
	КФ, мккат/кг (гомогенат пародонта)	r=-0,30; p=0,341	r=-0,89; p<0,001*	r=-0,73; p=0,007*
	ІМ (сироватка крові)	r=0,54; p=0,072	r=0,61; p=0,036*	r=0,46; p=0,131
	ІМ (гомогенат пародонта)	r=0,17; p=0,604	r=0,66; p=0,019*	r=0,08; p=0,812

Примітка. \* – статистично значущі результати.

Аналізуючи кореляційні взаємодії між показниками кісткового метаболїзму у сироватці крові/гомогенаті пародонта та генерацією АФО, ΔΨm, апоптозом/некрозом нейтрофілів крові встановлено відсутність вірогідних кореляційних взаємозв'язків у тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології (табл. 6.10, 6.11).

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронїчної тїолактонової ГГЦ виявлено пряму кореляційну взаємодію високої сили між активністю КФ у сироватці крові і кількістю нетрофілів з гіперпродукцією АФО; пряму кореляційну взаємодію помірної сили між активністю КФ у сироватці крові і кількістю нетрофілів із зниженим ΔΨm; пряму кореляційну взаємодію помірної сили між активністю КФ у сироватці крові і кількістю нетрофілів з ознаками апоптозу.

Таблиця 6.10 – Кореляційні зв'язки між показниками кісткового метаболізму у сироватці крові та генерацією активних форм оксигену, трансмембранним мітохондріальним потенціалом, апоптозом/некрозом нейтрофілів крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародон- тит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ЛФ, мккат/л	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	$r=-0,39$ ; $p=0,216$	$r=0,25$ ; $p=0,432$	$r=-0,01$ ; $p=0,974$
	Кількість клітин із зниженим $\Delta\Psi_m$ , %	$r=-0,35$ ; $p=0,271$	$r=0,25$ ; $p=0,425$	$r=-0,11$ ; $p=0,724$
	Кількість ANV <sup>+</sup> - клітин, %	$r=-0,43$ ; $p=0,158$	$r=-0,31$ ; $p=0,329$	$r=-0,38$ ; $p=0,229$
	Кількість PI <sup>+</sup> - клітин, %	$r=-0,01$ ; $p=0,964$	$r=-0,30$ ; $p=0,347$	$r=-0,08$ ; $p=0,798$
КФ, мккат/л	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	$r=0,16$ ; $p=0,620$	$r=0,46$ ; $p=0,135$	$r=0,79$ ; $p=0,002^*$
	Кількість клітин із зниженим $\Delta\Psi_m$ , %	$r=0,16$ ; $p=0,613$	$r=0,60$ ; $p=0,038^*$	$r=0,67$ ; $p=0,018^*$
	Кількість ANV <sup>+</sup> - клітин, %	$r=0,25$ ; $p=0,432$	$r=0,72$ ; $p=0,008^*$	$r=0,70$ ; $p=0,011^*$
	Кількість PI <sup>+</sup> - клітин, %	$r=0,38$ ; $p=0,222$	$r=0,65$ ; $p=0,023^*$	$r=0,52$ ; $p=0,084$
ІМ (ЛФ/КФ)	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	$r=-0,35$ ; $p=0,264$	$r=-0,31$ ; $p=0,327$	$r=-0,67$ ; $p=0,017^*$
	Кількість клітин із зниженим $\Delta\Psi_m$ , %	$r=-0,27$ ; $p=0,405$	$r=-0,49$ ; $p=0,106$	$r=-0,61$ ; $p=0,037^*$
	Кількість ANV <sup>+</sup> - клітин, %	$r=-0,45$ ; $p=0,144$	$r=-0,57$ ; $p=0,053$	$r=-0,80$ ; $p=0,002^*$
	Кількість PI <sup>+</sup> - клітин, %	$r=-0,43$ ; $p=0,160$	$r=-0,76$ ; $p=0,004^*$	$r=-0,54$ ; $p=0,068$

Примітка. \* – статистично значущі результати.

Також встановлено пряму кореляційну взаємодію помірної сили між активністю КФ у гомогенаті пародонта і кількістю нетрофілів з гіперпродукцією АФО; пряму кореляційну взаємодію високої сили між активністю КФ у гомогенаті пародонта і кількістю нетрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$ ; пряму кореляційну взаємодію помірної сили між активністю КФ у гомогенаті пародонта і кількістю нетрофілів з ознаками апоптозу (табл. 6.10, 6.11).

Таблиця 6.11 – Кореляційні зв'язки між показниками кісткового метаболізму у гомогенаті пародонта та генерацією активних форм оксигену, трансмембранним мітохондріальним потенціалом, апоптозом/некрозом нейтрофілів крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародон-тит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
		1	2	3
ЛФ, мккат/кг	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	$r=-0,14$ ; $p=0,654$	$r=0,12$ ; $p=0,716$	$r=-0,03$ ; $p=0,930$
	Кількість клітин із зниженим $\Delta\Psi_m$ , %	$r=-0,25$ ; $p=0,429$	$r=-0,11$ ; $p=0,728$	$r=0,21$ ; $p=0,522$
	Кількість ANV <sup>+</sup> - клітин, %	$r=-0,12$ ; $p=0,711$	$r=0,11$ ; $p=0,740$	$r=0,30$ ; $p=0,339$
	Кількість PI <sup>+</sup> - клітин, %	$r=-0,21$ ; $p=0,504$	$r=-0,18$ ; $p=0,578$	$r=0,11$ ; $p=0,741$
КФ, мккат/кг	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	$r=0,36$ ; $p=0,257$	$r=0,65$ ; $p=0,022^*$	$r=0,68$ ; $p=0,015^*$
	Кількість клітин із зниженим $\Delta\Psi_m$ , %	$r=0,17$ ; $p=0,596$	$r=0,81$ ; $p=0,002^*$	$r=0,73$ ; $p=0,007^*$
	Кількість ANV <sup>+</sup> - клітин, %	$r=0,37$ ; $p=0,232$	$r=0,52$ ; $p=0,087$	$r=0,69$ ; $p=0,014^*$
	Кількість PI <sup>+</sup> - клітин, %	$r=0,26$ ; $p=0,411$	$r=0,53$ ; $p=0,076$	$r=0,56$ ; $p=0,056$

Продовження таблиці 6.11

		1	2	3
ІМ (ЛФ/КФ)	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	r=-0,20; p=0,537	r=-0,43; p=0,163	r=0,30; p=0,336
	Кількість клітин із зниженим $\Delta\Psi_m$ , %	r=-0,48; p=0,115	r=-0,70; p=0,011*	r=-0,07; p=0,826
	Кількість ANV <sup>+</sup> - клітин, %	r=-0,25; p=0,425	r=-0,28; p=0,384	r=-0,09; p=0,770
	Кількість PI <sup>+</sup> - клітин, %	r=-0,36; p=0,249	r=-0,50; p=0,099	r=-0,05; p=0,879
Примітка. * – статистично значущі результати.				

Особливу цікавість викликає наявність низки вірогідних прямих кореляційних взаємодій високої та помірної сили між активністю КФ у сироватці крові та кількістю нейтрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$  ( $r=0,60$ ;  $p=0,038$ ); кількістю нейтрофілів з ознаками апоптозу ( $r=0,72$ ;  $p=0,008$ ); кількістю нейтрофілів з ознаками некрозу ( $r=0,65$ ;  $p=0,023$ ); між активністю КФ у гомогенаті пародонта та кількістю нейтрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$  ( $r=0,81$ ;  $p=0,002$ ); між активністю КФ у гомогенаті пародонта та кількістю нейтрофілів з гіперпродукцією АФО ( $r=0,65$ ;  $p=0,022$ ) у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ (табл. 6.10, 6.11). Крім того, у даній групі тварин встановлено зворотню кореляцію високої сили між ІМ у сироватці крові та кількістю нейтрофілів з ознаками некрозу ( $r=-0,76$ ;  $p=0,004$ ) та між ІМ у гомогенаті пародонта та кількістю нейтрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$  ( $r=-0,70$ ;  $p=0,011$ ) (див. табл. 6.10).

Аналізуючи кореляційні взаємодії між показниками кісткового метаболізму у сироватці крові та показниками пероксидного окиснення ліпідів у тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології виявлено зворотню взаємодію помірної сили між ІМ та вмістом ТБК-АП у сироватці крові ( $r=-0,62$ ;  $p=0,032$ ) (табл. 6.12).

Таблиця 6.12 – Кореляційні зв'язки між показниками кісткового метаболізму у сироватці крові та показниками пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ЛФ, мккат/л	ТБК-АП, мкмоль/л	$r=-0,54$ ; $p=0,068$	$r=0,07$ ; $p=0,835$	$r=0,22$ ; $p=0,498$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну	$r=-0,39$ ; $p=0,214$	$r=0,19$ ; $p=0,564$	$r=0,08$ ; $p=0,807$
КФ, мккат/л	ТБК-АП, мкмоль/л	$r=0,44$ ; $p=0,157$	$r=0,53$ ; $p=0,076$	$r=0,81$ ; $p=0,001^*$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну	$r=0,05$ ; $p=0,870$	$r=0,31$ ; $p=0,319$	$r=0,57$ ; $p=0,051$
ІМ (ЛФ/КФ)	ТБК-АП, мкмоль/л	$r=-0,62$ ; $p=0,032^*$	$r=-0,25$ ; $p=0,432$	$r=-0,39$ ; $p=0,208$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну	$r=-0,09$ ; $p=0,777$	$r=-0,17$ ; $p=0,602$	$r=-0,22$ ; $p=0,491$

Примітка. \* – статистично значущі результати.

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено пряму кореляційну взаємодію високої сили між активністю КФ і вмістом ТБК-АП у сироватці крові ( $r=0,81$ ;  $p=0,001$ ) та вмістом ТБК-АП у гомогенаті пародонта ( $r=0,73$ ;  $p=0,007$ ) (табл. 6.13).

Аналізуючи кореляційні взаємодії між показниками кісткового метаболізму у гомогенаті пародонта та показниками пероксидного окиснення ліпідів як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології вірогідних взаємозв'язків не виявлено (табл. 6.14, 6.15).

Таблиця 6.13 – Кореляційні зв'язки між показниками кісткового метаболізму у сироватці крові та показниками пероксидного окиснення ліпідів у гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ЛФ, мккат/л	ТБК-АП, мкмоль/кг	$r=-0,14$ ; $p=0,661$	$r=-0,04$ ; $p=0,909$	$r=-0,15$ ; $p=0,651$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну	$r=0,02$ ; $p=0,961$	$r=-0,13$ ; $p=0,693$	$r=-0,18$ ; $p=0,583$
КФ, мккат/л	ТБК-АП, мкмоль/кг	$r=0,01$ ; $p=0,999$	$r=0,45$ ; $p=0,140$	$r=0,73$ ; $p=0,007^*$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну	$r=0,35$ ; $p=0,258$	$r=0,50$ ; $p=0,099$	$r=0,48$ ; $p=0,115$
ІМ (ЛФ/КФ)	ТБК-АП, мкмоль/кг	$r=-0,10$ ; $p=0,762$	$r=-0,49$ ; $p=0,103$	$r=-0,55$ ; $p=0,061$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну	$r=-0,33$ ; $p=0,296$	$r=-0,38$ ; $p=0,226$	$r=-0,32$ ; $p=0,304$
Примітка. * – статистично значущі результати.				

Таблиця 6.14 – Кореляційні зв'язки між показниками кісткового метаболізму у гомогенаті пародонта та показниками пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ЛФ, мккат/кг	ТБК-АП, мкмоль/л	$r=0,23$ ; $p=0,467$	$r=0,03$ ; $p=0,930$	$r=0,21$ ; $p=0,508$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну	$r=-0,09$ ; $p=0,784$	$r=0,43$ ; $p=0,162$	$r=0,03$ ; $p=0,917$
КФ, мккат/кг	ТБК-АП, мкмоль/л	$r=0,53$ ; $p=0,077$	$r=0,85$ ; $p<0,001^*$	$r=0,76$ ; $p=0,005^*$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну	$r=0,31$ ; $p=0,330$	$r=0,28$ ; $p=0,383$	$r=0,42$ ; $p=0,170$
ІМ (ЛФ/КФ)	ТБК-АП, мкмоль/л	$r=0,12$ ; $p=0,716$	$r=-0,59$ ; $p=0,043^*$	$r=-0,15$ ; $p=0,633$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну	$r=-0,32$ ; $p=0,309$	$r=0,19$ ; $p=0,549$	$r=-0,07$ ; $p=0,829$
Примітка. * – статистично значущі результати.				

Таблиця 6.15 – Кореляційні зв'язки між показниками кісткового метаболізму у гомогенаті пародонта та показниками пероксидного окиснення ліпідів у гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ЛФ, мккат/кг	ТБК-АП, мкмоль/кг	$r=-0,36$ ; $p=0,244$	$r=-0,26$ ; $p=0,417$	$r=0,16$ ; $p=0,616$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну	$r=-0,01$ ; $p=0,983$	$r=0,12$ ; $p=0,715$	$r=0,10$ ; $p=0,750$
КФ, мккат/кг	ТБК-АП, мкмоль/кг	$r=-0,27$ ; $p=0,404$	$r=0,50$ ; $p=0,099$	$r=0,80$ ; $p=0,002^*$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну	$r=0,30$ ; $p=0,351$	$r=0,48$ ; $p=0,118$	$r=0,76$ ; $p=0,004^*$
ІМ (ЛФ/КФ)	ТБК-АП, мкмоль/кг	$r=-0,39$ ; $p=0,209$	$r=-0,52$ ; $p=0,086$	$r=-0,18$ ; $p=0,570$
	ГПЛ, ум.од. /мг протеїну	$r=-0,18$ ; $p=0,585$	$r=-0,27$ ; $p=0,404$	$r=-0,30$ ; $p=0,339$

Примітка. \* – статистично значущі результати.

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено пряму кореляційну взаємодію високої сили між активністю КФ у гомогенаті пародонта і вмістом ТБК-АП у сироватці крові ( $r=0,76$ ;  $p=0,005$ ), вмістом ТБК-АП у гомогенаті пародонта ( $r=0,80$ ;  $p=0,002$ ) та вмістом ГПЛ у гомогенаті пародонта ( $r=0,76$ ;  $p=0,004$ ).

Аналізуючи кореляційні взаємодії між показниками кісткового метаболізму у сироватці крові та показниками окиснювальної модифікації протеїнів як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології вірогідних взаємозв'язків не виявлено (табл. 6.16, 6.17). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі

хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено пряму кореляційну взаємодію високої сили між активністю КФ і вмістом ОМП<sub>370</sub> у сироватці крові ( $r=0,89$ ;  $p<0,001$ ) та вмістом ОМП<sub>430</sub> у гомогенаті пародонта ( $r=0,90$ ;  $p<0,001$ ). Крім того, у даній групі щурів встановлено пряму кореляційну взаємодію помірної сили між активністю КФ і вмістом ОМП<sub>430</sub> у сироватці крові ( $r=0,64$ ;  $p=0,026$ ) та зворотною кореляційну взаємодію помірної сили між ІМ і вмістом ОМП<sub>430</sub> у гомогенаті пародонта ( $r=-0,69$ ;  $p=0,013$ ).

Таблиця 6.16 – Кореляційні зв'язки між показниками кісткового метаболізму у сироватці крові та показниками окиснювальної модифікації протеїнів у сироватці крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ЛФ, мккат/л	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну	$r=-0,10$ ; $p=0,759$	$r=0,01$ ; $p=0,974$	$r=0,23$ ; $p=0,481$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну	$r=0,07$ ; $p=0,837$	$r=0,20$ ; $p=0,533$	$r=0,01$ ; $p=0,983$
КФ, мккат/л	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну	$r=0,35$ ; $p=0,263$	$r=0,69$ ; $p=0,014^*$	$r=0,89$ ; $p<0,001^*$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну	$r=0,45$ ; $p=0,140$	$r=0,59$ ; $p=0,042^*$	$r=0,64$ ; $p=0,026^*$
ІМ (ЛФ/КФ)	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну	$r=-0,47$ ; $p=0,126$	$r=-0,59$ ; $p=0,044^*$	$r=-0,38$ ; $p=0,219$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну	$r=-0,42$ ; $p=0,178$	$r=-0,44$ ; $p=0,154$	$r=-0,38$ ; $p=0,217$

Примітка. \* – статистично значущі результати.



Таблиця 6.17 – Кореляційні зв'язки між показниками кісткового метаболізму у сироватці крові та показниками окиснювальної модифікації протеїнів у гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ЛФ, мккат/л	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну	$r=-0,14$ ; $p=0,662$	$r=-0,03$ ; $p=0,935$	$r=-0,15$ ; $p=0,638$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну	$r=-0,25$ ; $p=0,425$	$r=-0,01$ ; $p=0,987$	$r=-0,01$ ; $p=0,965$
КФ, мккат/л	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну	$r=0,07$ ; $p=0,837$	$r=0,70$ ; $p=0,012^*$	$r=0,51$ ; $p=0,087$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну	$r=0,24$ ; $p=0,445$	$r=0,97$ ; $p<0,001^*$	$r=0,90$ ; $p<0,001^*$
ІМ (ЛФ/КФ)	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну	$r=-0,17$ ; $p=0,587$	$r=-0,53$ ; $p=0,075$	$r=-0,52$ ; $p=0,082$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну	$r=-0,45$ ; $p=0,144$	$r=-0,80$ ; $p=0,002^*$	$r=-0,69$ ; $p=0,013^*$

Примітка. \* – статистично значущі результати.

Аналізуючи кореляційні взаємодії між показниками кісткового метаболізму у гомогенаті пародонта та показниками окиснювальної модифікації протеїнів як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології вірогідних взаємозв'язків не виявлено (табл. 6.18, 6.19). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено пряму кореляційну взаємодію високої сили між активністю КФ і вмістом ОМП<sub>370</sub> у сироватці крові ( $r=0,74$ ;  $p=0,006$ ) та вмістом ОМП<sub>430</sub> у гомогенаті пародонта ( $r=0,85$ ;  $p<0,001$ ).

Таблиця 6.18 – Кореляційні зв'язки між показниками кісткового метаболізму у гомогенаті пародонта та показниками окиснювальної модифікації протеїнів у сироватці крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ЛФ, мккат/кг	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну	$r=-0,15$ ; $p=0,642$	$r=-0,18$ ; $p=0,578$	$r=0,33$ ; $p=0,297$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну	$r=0,28$ ; $p=0,384$	$r=-0,30$ ; $p=0,340$	$r=0,47$ ; $p=0,120$
КФ, мккат/кг	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну	$r=0,25$ ; $p=0,436$	$r=0,64$ ; $p=0,024^*$	$r=0,74$ ; $p=0,006^*$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну	$r=0,34$ ; $p=0,280$	$r=0,84$ ; $p=0,001^*$	$r=0,52$ ; $p=0,080$
ІМ (ЛФ/КФ)	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну	$r=-0,31$ ; $p=0,331$	$r=-0,54$ ; $p=0,071^*$	$r=-0,09$ ; $p=0,769$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну	$r=0,14$ ; $p=0,676$	$r=-0,78$ ; $p=0,003^*$	$r=0,09$ ; $p=0,779$
Примітка. * – статистично значущі результати.				

Таблиця 6.19 – Кореляційні зв'язки між показниками кісткового метаболізму у гомогенаті пародонта та показниками окиснювальної модифікації протеїнів у гомогенаті пародонта за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ЛФ, мккат/кг	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну	$r=-0,09$ ; $p=0,786$	$r=-0,30$ ; $p=0,351$	$r=0,59$ ; $p=0,043$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну	$r=0,01$ ; $p=0,996$	$r=-0,05$ ; $p=0,874$	$r=0,14$ ; $p=0,673$
КФ, мккат/кг	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну	$r=0,07$ ; $p=0,820$	$r=0,61$ ; $p=0,037^*$	$r=0,35$ ; $p=0,272$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну	$r=0,38$ ; $p=0,226$	$r=0,82$ ; $p=0,001^*$	$r=0,85$ ; $p<0,001^*$
ІМ (ЛФ/КФ)	ОМП <sub>370</sub> , ммоль/г протеїну	$r=-0,16$ ; $p=0,617$	$r=-0,52$ ; $p=0,082$	$r=0,35$ ; $p=0,272$
	ОМП <sub>430</sub> , ммоль/г протеїну	$r=-0,06$ ; $p=0,857$	$r=-0,55$ ; $p=0,061$	$r=-0,30$ ; $p=0,347$
Примітка. * – статистично значущі результати.				

На основі наведених у розділі 6 результатів можна зробити такі проміжні висновки:

1. ЛПС-індуковане запалення тканин пародонта у щурів супроводжується катаболізмом сполучної тканини, про що свідчить вірогідне підвищення колагенолітичної активності, збільшення вмісту вільного оксипроліну, зростання вмісту маркерів деструкції глікопротеїнів – сіалових кислот та вільної фукози, підвищення вмісту маркерів розпаду протеогліканів – ГАГ у сироватці крові. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює деструкцію сполучної тканини за умови пародонтиту, що підтверджується вірогідним перевищенням показників колагенолітичної активності (в 2,5 раза;  $p=0,009$ ), вмісту ГАГ (на 61,7 %;  $p=0,007$ ) та сіалових кислот (на 65,5 %;  $p=0,008$ ) відносно тварин з ЛПС-індукованим запаленням без супутньої патології.

2. Проведений кореляційний аналіз між рівнем ГЦ та показниками катаболізму сполучної тканини у сироватці крові щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі ГГЦ виявив низку вірогідних взаємодій, що підтверджує вплив хронічної тіолактонової ГГЦ на дезорганізацію структур колагену та деполімеризацію компонентів органічного матриксу сполучної тканини.

3. ЛПС-індуковане запалення пародонта у щурів супроводжується порушенням кальцій-фосфорного обміну, що проявляється підвищенням вмісту загального кальцію в сироватці крові на 10,9 % ( $p=0,035$ ). Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює мінеральний дисбаланс за умови пародонтиту, що підтверджується не лише більш вираженою гіперкальціємією відносно тварин з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології, а й гіперфосфатемією.

4. ЛПС-індуковане запалення пародонта у щурів супроводжується зниженням активності ЛФ (на 40,1 %;  $p=0,001$ ) та індексу мінералізації (в 3,5 раза;  $p<0,001$ ) з одночасним підвищенням активності КФ (в 2,0 рази;  $p<0,001$ ) у гомогенаті пародонта, що свідчить про пригнічення синтетичних процесів у кістковій тканині й активацію реакцій остеорезорбції. Хронічна

тіолактонова ГГЦ посилює порушення кісткового метаболізму за умови пародонтиту, що підтверджується більш вираженими змінами досліджуваних показників відносно тварин з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології.

5. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено пряму кореляційну взаємодію високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові і активністю КФ у сироватці крові ( $r=0,89$ ;  $p<0,001$ ) та пряму кореляційну взаємодію помірної сили між рівнем ГЦ у сироватці крові і активністю КФ у гомогенаті пародонта ( $r=0,66$ ;  $p=0,019$ ), що підтверджує вплив хронічної тіолактонової ГГЦ на кісткове ремоделювання, особливо процеси остеорезорбції.

Результати розділу опубліковані у наукових працях автора [229-233].

## РОЗДІЛ 7

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Розвиток ГП тісно корелює із системними процесами в організмі, які характеризуються запальною відповіддю. Патогенетичний дисбаланс між про- і протизапальним пулами цитокінів (прозапальний цитокіновий зсув) при захворюваннях пародонта є наслідком неадекватної локальної імунної відповіді на мікрофлору [234]. У відповідь на хронічну присутність бактерій зубного нальоту імунозапальна реакція, яка розвивається в тканинах ясен та пародонта, призводить до руйнування структурних елементів пародонта [235]. Є дані про те, що прогресивне руйнування кісткової тканини у пацієнтів з пародонтитом пов'язане з комбінацією IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  і простагландину E2 (PGE2). Ці цитокіни можуть не лише ініціювати запальний процес, але й активувати остеокластогенез і резорбцію кісткової тканини остеокластами [236-238].

Крім того, під впливом прозапальних цитокінів тканини пародонта інфільтруються нейтрофілами і макрофагами. Процес секреторної дегрануляції цих клітин запускається вивільненням матриксних металопротеїназ (MMPs) [239, 240], що, у свою чергу, викликає деструкцію СТ та подальше руйнування альвеолярної кістки, активуючи резидентні клітини пародонта [241]. Водночас є дані, що рівень цитокінів у ясенній рідині та периферичній крові не завжди корелює з процесами ремоделювання кістки [242].

До основних медіаторів імунної відповіді належить багатофункціональний IL-1 $\beta$ , який продукується у вигляді неактивного протеїну багатьма клітинами імунної системи у відповідь на молекулярні патерни, пов'язані з патогенами або ушкодженням [243]. Існують дані, що IL-1 $\beta$  спричиняє кісткову резорбцію, а також є посередником руйнування м'яких тканин через стимулювання продукування простагландинів, індукцію колагенази та інших протеаз. Крім того, він здатний активувати синтез інших цитокінів: IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-7 та фактор некрозу пухлин- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) [244].

Фактор некрозу пухлин- $\alpha$  є одним з основних медіаторів, що визначають розвиток і прогресування запалення у тканинах пародонта [206]. Більше того, саме TNF- $\alpha$  відводять ключову роль у патогенезі запально-індукованої втрати кісткової тканини при ГП [17].

Результати наших досліджень показали, що вміст IL-1 $\beta$  та TNF- $\alpha$  у щурів із ЛПС-індукованим запаленням пародонта без супутньої патології вірогідно збільшився відносно контрольної групи як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта.

Результати, які ми отримали, співзвучні з результатами В. Al-Ghurabi та співавторів, які відмітили зростання вмісту IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$  у сироватці крові пацієнтів з ГП [244]. Н. Oh та співавтори, визначаючи вміст IL-1 $\beta$  у ясенній рідині хворих на ГП, встановили, що цей показник корелював із вираженням запалення [245]. Т.І. Вівчаренко та М.М. Рожко, вивчаючи рівень TNF- $\alpha$  у сироватці крові пацієнтів з гіпертонічною хворобою II стадії і ГП II ступеня, спостерігали його виражене підвищення [246].

Виявлено взаємозв'язок між високою частотою поліморфізму генів у локусах IL-1 $\alpha$  -899, IL-1 $\beta$  +3953 та розвитком пародонтиту тяжкого ступеня в осіб віком до 35 років, а також збільшеною частотою виявлення в пародонтальних кишнях цих пацієнтів маркерів ДНК – *P. intermedia*, *T. denticola*, вірусу простого герпесу 1-го типу та вірусу Епштейна – Барр [234].

На противагу цьому, інші дослідники не встановили вірогідних змін вмісту IL-1 $\beta$  та TNF- $\alpha$  у пацієнтів із хронічним пародонтитом відносно здорових осіб [247, 248].

Особливе місце серед цитокінів посідає IL-4, оскільки проявляє як про-, так і протизапальну дію [249]. Встановлено, що його вміст у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вірогідно зменшився відносно контрольної групи. Аналогічну тенденцію щодо змін вмісту IL-4 спостерігали і в гомогенаті пародонта.

Г.М. Мельничук також відзначила вірогідне зменшення вмісту ІЛ-4 у сироватці крові при хронічному ГП: до  $(0,381 \pm 0,274)$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) при початковому та І ступенях і до  $(0,280 \pm 0,220)$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) при подальшому розвитку хвороби відносно здорових осіб ( $(0,700 \pm 0,411)$  пг/мл) [250].

Інтерлейкін-10 (ІЛ-10) належить до визнаних протизапальних цитокінів, але дослідження його вмісту за умови ГП не численні [251-253]. Результати наших досліджень показали, що вміст ІЛ-10 у щурів із ЛПС-індукованим запаленням пародонта без супутньої патології вірогідно зменшився відносно контрольної групи як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта.

Отримані дані співзвучні з результатами Д.В. Шмідт, яка відмітила двократне зменшення вмісту ІЛ-10 в ясенній рідині пацієнтів з ГП щодо здорових осіб [254]. О.В. Гармаш відзначає стійку тенденцію до зниження рівня ІЛ-10 у сироватці крові хворих на ГП. Рівень ІЛ-10 може інтерпретуватися як маркер пародонтиту, ступінь зниження якого корелює з клінічними проявами захворювання [255]. Q. Zhang та співавтори продемонстрували, що ІЛ-10 є потужним супресором остеопорузу альвеолярної кістки [256].

Отже, ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується гіперпродукуванням прозапальних TNF- $\alpha$  й ІЛ-1 $\beta$  на тлі зниження вмісту протизапальних цитокінів ІЛ-10 та ІЛ-4, що відіграють важливу роль в ініціації і прогресуванні ГП та запуску метаболічних каскадних реакцій. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює цитокіновий дисбаланс при ЛПС-індукованому пародонтиті, на що вказує вірогідне переважання вмісту TNF- $\alpha$  за умови поєднаної патології відносно щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта.

Імовірно, посилення продукування прозапальних цитокінів за коморбідного перебігу пародонтиту (на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ) відбувається за рахунок збільшення експресії генів, яке, у свою чергу, пов'язане з тим, що високий рівень ГЦ активує NF- $\kappa$ B [257]. Відомо, що NF- $\kappa$ B бере

участь у регуляції адаптивної імунної відповіді та стимулює синтез прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ), прозапальних ензимів (індуцибельної синтази нітроген (II) оксиду, циклооксигенази-2), молекул адгезії лейкоцитів, які в подальшому посилюють міграцію лейкоцитів у стінку судини, тим самим збільшуючи цитотоксичність лейкоцитів [112, 258].

Під час аналізу кореляційних взаємозв'язків між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом прозапальних цитокінів відзначено наявність вірогідних прямих кореляційних взаємодій високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$ , як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта.

Серед біомаркерів, які відображають вираження запальних процесів в організмі, велике значення мають протеїни гострої фази, що з'являються в плазмі крові через 4–6 год після ураження тканини різними чинниками, до яких належить С-реактивний протеїн (СРП). Він є неспецифічним гострофазовим протеїном родини пентраксинів, яка включає протеїни шаблонного розпізнавання – складову частину уродженого імунітету. СРП синтезується в печінці у відповідь на дію прозапальних цитокінів та бере участь у зв'язуванні комплекменту і макрофагальному фагоцитозі [259, 260].

Результати наших досліджень показали, що вміст СРП вірогідно зріс за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта. Підвищення цього показника у сироватці крові, ймовірно, зумовлене тим, що медіатори запалення (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ), які вивільняються при пародонтиті, здатні стимулювати гепатоцити продукувати СРП. Більш виражене зростання вмісту даного протеїну в гомогенаті пародонта відносно змін у сироватці крові тварин при пародонтиті можна пояснити тим, що, хоча СРП первинно продукує печінка у відповідь на дію прозапальних цитокінів, існують дані про позапечінковий його синтез в яснах [261].



Наявність коморбідної хронічної тіолактонової ГГЦ посилює продукування СРП за умови ЛПС-індукованого пародонтиту, що підтверджується переважанням його вмісту на 82,8 % ( $p=0,009$ ) у гомогенаті пародонта тварин з поєднаною патологією відносно щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології та наявністю вірогідних прямих кореляційних взаємодій високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом СРП як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта.

На сьогодні відомо про несприятливий вплив ГГЦ на процес запалення. Так, виявлено вірогідні кореляційні взаємодії між вмістом ГЦ та біогуморальними факторами запалення, такими, як рівні циркулюючих розчинних рецепторів цитокінів (IL-2sR $\alpha$ , sTNF-R75), молекул адгезії (sICAM-1) і СРП [262].

У нормі метаболізм клітин багато в чому залежить від редокс-балансу, який, у свою чергу, визначається співвідношенням і активністю компонентів про- й антиоксидантної систем [209]. Активація ПОЛ відіграє значну роль у патогенезі ГП, зумовлюючи не лише порушення обмінних процесів, але й структурні зміни у тканинах пародонта. Доведеним є вплив ПОЛ на розвиток пародонтиту через вільнорадикальну деполімеризацію мукополісахаридів і пероксидну деструкцію еластичних волокон, що призводить до атеросклерозу судин пародонта [263].

Крім того, неконтрольовані реакції ПОЛ пригнічують захисні механізми організму, що, у свою чергу, сприяє активації мікроорганізмів, які колонізують ясна і пародонтальні кишені [264] та є важливим патофізіологічним механізмом розвитку ЕІ [265].

Водночас ушкодження ліпідного матриксу біомембран за рахунок утворення продуктів пероксидації поліненасичених жирних кислот супроводжується окиснювальною модифікацією протеїнів і порушенням біофізичних властивостей мембранних протеїнів, що, у свою чергу, призводить

до глибоких змін ензимних та іонотранспортувальних властивостей мембран [266].

За даними О.В. Гуленко та співавторів, у результаті оксидативного стресу спостерігають загибель клітин проміжного епітелію і прилеглої СТ, руйнування зв'язкового апарату зубів та їх патологічну рухомість, порушення процесів регенерації, формування пародонтальних кишень і руйнування кісткової тканини [267].

Встановлено, що ЛПС-індукований пародонтит без супутньої патології у щурів супроводжується вірогідним підвищенням інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта.

Результати наших досліджень узгоджуються з даними науковців, які спостерігали підвищення інтенсивності пероксидації ліпідів у плазмі крові пацієнтів із гострим та хронічним пародонтитом відносно здорових осіб [264, 268, 269]. Г.Д. Семенюк та співавт. обстежили 120 хворих на ГП I ступеня віком від 18 до 35 років без гострих і хронічних захворювань внутрішніх органів та встановили, що у ротовій порожнині пацієнтів вірогідно підвищується інтенсивність процесів ОМП, особливо за рахунок альдегідо- і кетонічних основних характеру [266].

Аналогічні дані отримано і при дослідженні експериментального пародонтиту. Так, В.В. Щерба та співавтори відмітили вірогідне збільшення вмісту ТБК-АП у супернатанті гемолізатів еритроцитів щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом – у 2,1 раза, а в гомогенаті пародонта – у 2,6 раза [270]. В.Ф. Черемісіна та співавтори відзначили активацію ПОЛ і зниження активності антиоксидантних ензимних систем при гідрокортизоновому пародонтиті у кролів. При цьому виявлено однонаправленість змін досліджуваних показників як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта [271].

Найважливішими компонентами системи АОС є ензими СОД і каталаза [272]. Результати наших досліджень показали вірогідне зниження активності СОД як у гемолізаті еритроцитів, так і в гомогенаті пародонта щурів із ЛПС-індукованим запаленням пародонта без супутньої патології. Активність каталази при цьому вірогідно не змінювалася.

На противагу цьому, К.С. Непорада та співавт. встановили, що у пацієнтів із хронічним ГП у ротовій рідині вірогідно зменшувалась активність як СОД, так і каталази [273]. R.R. Vincent та співавт. також відзначили зниження активності цього ензиму в тканинах ясен пропорційно до вираження пародонтиту [274].

Причиною зниження активності СОД у пародонті може бути пригнічення її синтезу внаслідок сповільнення процесів транскрипції і трансляції в клітинах при запальному процесі [275]. Іншим вагомим фактором інгібування активності СОД під впливом ЛПС може бути надмірне підвищення в запальних клітинах рівня АФО, що призводить до незворотного відновлення купруму в активному центрі ензиму або ж окиснення в ньому деяких функціональних груп, зокрема тіолових [276].

Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює оксидативний стрес за умови ЛПС-індукованого пародонтиту, на що вказують вірогідно вищі значення ТБК-АП та ОМП як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта щурів із поєднаною патологією відносно тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології.

Під час аналізу кореляційних взаємодій між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом альдегідо- і кетонпохідних нейтрального й основного характеру встановлено низку вірогідних кореляційних взаємозв'язків у тварин усіх дослідних груп. Особливу цікавість викликає наявність вірогідної прямої взаємодії високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом альдегідо- і кетонпохідних основного характеру в гомогенаті пародонта як за умови ЛПС-

індукованого пародонтиту без супутньої патології, так і при ЛПС-індукованому пародонтиті на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ.

Щодо кореляцій між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом ТБК-АП, то у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено вірогідну пряму взаємодію високої сили між рівнем ГЦ і вмістом ТБК-АП у сироватці крові та вірогідну пряму взаємодію помірної сили між рівнем ГЦ і вмістом ТБК-АП у гомогенаті пародонта.

Крім того, у щурів із ЛПС-індукованим запаленням пародонта на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ спостерігали вірогідно нижчу супероксидазну активність як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта відносно тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології.

Під час аналізу кореляційних взаємозв'язків між рівнем ГЦ у сироватці крові та показниками ензимної ланки АОС у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології вірогідних кореляцій не виявлено. У тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено зворотну кореляцію дуже високої сили між рівнем ГЦ та активністю СОД у гемолізаті еритроцитів, зворотну кореляцію високої сили між рівнем ГЦ та активністю СОД у гомогенаті пародонта.

У доступній нам літературі знайдено лише одне дослідження О.М. Кривошеєвої та співавторів, які продемонстрували, що ГГЦ, яку моделювали шляхом внутрішньочеревного введення ГЦ у дозі 0,001 мг на 1 мл об'єму циркулюючої крові протягом 10 днів, ускладнювала перебіг пародонтиту в щурів, посилюючи оксидативний стрес [37]. Ступінь оксидативного стресу дослідники визначали за рівнем ТБК-АП і загальною антиоксидантною активністю у сироватці крові та гомогенаті тканини ясен тварин.

Одним із можливих варіантів розвитку оксидативного стресу на тлі ГГЦ є зниження активності ензимної ланки АОС [137, 138, 277]. Крім того, ГГЦ інгібує активність ензиму  $N^G, N^G$ -диметиларгінін диметиламіногідролази, що

розщеплює асиметричний диметиларгінін, надлишок якого призводить до порушення роботи синтаз нітроген (II) оксиду та сприяє генерації великої кількості вільних радикалів [140].

Також одним з імовірних механізмів ГЦ-опосередкованого оксидативного стресу є здатність ГЦ до «автоокиснення» (за присутності кисню та іонів металів змінної валентності за рахунок наявності сульфгідрильної групи) з утворенням вільних радикалів – супероксид аніона, гідроген пероксиду і гідроксильних радикалів [142, 278].

Крім того, є дані про те, що надлишок ГЦ сприяє посиленню продукування прооксидантного протеїну *p66Sch*, змінюючи метилування промотора гена *p66Sch* і збільшуючи експресію протеїну *p66Sch*, який надходить у мітохондрії та активує генерацію активних форм кисню [258].

При порушенні антиоксидантного захисту в пародонті лавиноподібно розвивається ВРО. Підвищується рівень пероксидного окиснення фосфоліпідів клітинних мембран із деструкцією останніх і загибеллю клітин пародонта з вивільненням ендогенних токсинів [264]. Інтегральним показником ендотоксемії є кількість МСМ – гетерогенної групи речовин різноманітної структури з молекулярною масою від 300 до 5000 Да [279].

Ендогенна інтоксикація (ЕІ) не лише супроводжує більшість коморбідних захворювань, але і є важливим фактором їх патогенезу та в багатьох випадках визначає можливі несприятливі наслідки, адже важливою особливістю МСМ вважають їх високу біологічну активність (нейротоксичність, сприяють гемолізу еритроцитів, інгібують еритропоез та ензимну активність, викликають стан вторинної імуносупресії). Також МСМ здатні блокувати рецептори клітин, зв'язуючись з активними центрами молекули альбуміну, конкуруючи з регуляторними пептидами і, таким чином, порушуючи процес гуморальної регуляції [280, 281, 282].

Індуковане ЛПС запалення пародонта без супутньої патології супроводжується зростанням рівня ЕІ, на що вказує збільшення вмісту МСМ<sub>1</sub>

та  $MCM_2$  як на системному (сироватка крові), так і на локальному (гомогенат пародонта) рівнях. Інтенсивність змін є вищою в гомогенаті пародонта, що, ймовірно, пов'язано з безпосереднім ушкодженням, деструктивними змінами, розвитком запалення, гіпоксією та активацією вільнорадикального окиснення ліпідів і протеїнів.

К.С. Непорада та співавтори встановили, що у пацієнтів із хронічним ГП у ротовій рідині вірогідно збільшується вміст МСМ [273]. О.В. Авдєєв та А.Б. Бойків також відмітили зростанням рівня ЕІ у тварин з пародонтитом при змінній реактивності [283]. В.В. Щерба та М.М. Корда за умови ЛПС-індукованого пародонтиту в щурів відзначили підвищення вмісту  $MCM_1$  і  $MCM_2$  як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта [282]. Н.І. Григ досліджувала ризик виникнення ускладнень на етапах комплексного лікування хворих на ГП шляхом оцінювання ступеня ЕІ. Встановлено зростання рівня МСМ у хворих на ГП під час первинного обстеження: при I ступені –  $(301,70 \pm 4,82)$  опт. од., при II ступені –  $(355,30 \pm 8,80)$  опт. од. відносно осіб без захворювань пародонта –  $(259,60 \pm 5,50)$  опт. од. [284].

Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює ЕІ при ЛПС-індукованому пародонтиті, на що вказують вірогідно вищі значення  $MCM_1$  і  $MCM_2$  у досліджуваних біологічних рідинах за умови поєднаної патології та прямі кореляційні взаємодії між рівнем ГЦ у сироватці крові й вмістом  $MCM_1$  і  $MCM_2$  не лише у сироватці крові, але й у гомогенаті пародонта.

При поєднанні ЛПС-індукованого пародонтиту з хронічною тіолактоновою ГГЦ у щурів значно зростають оксидативні та прозапальні зміни. Ці процеси тісно взаємопов'язані. Так, цитокіни стимулюють синтез АФО та інших оксидантів, а ті, у свою чергу, беруть участь в активації редоксчутливих ядерних факторів транскрипції, зокрема NF- $\kappa$ B і протеїну-активатора AP-1. Хибне коло замикають експресія генів прозапальних протеїнів, ініційована активацією NF- $\kappa$ B, і збільшення синтезу цитокінів та інших медіаторів запалення, в тому числі СРП [285]. Значне підвищення

інтенсивності ВРО при одночасному зниженні активності АОС призводить до збільшення утворення токсичних продуктів ПОЛ, що порушують властивості мембран, змінюють іонну проникність та порушують біоенергетичні механізми [286]. Це супроводжується деструктивними змінами, гіперензимемією, накопиченням токсичних речовин та, як наслідок, зростанням ЕІ.

Характерною ознакою пародонтиту є хронічний перебіг захворювання, що призводить до незворотного руйнування тканин, які оточують зуб. У патогенезі пародонтиту поліморфноядерні лейкоцити (ПМЛ) виконують функцію первинних медіаторів відповіді господаря проти патогенних проліферуючих мікроорганізмів пародонта. Активовані ПМЛ продукують велику кількість АФО, які відіграють основну роль у прогресуванні ГП, що призводить до руйнування тканин пародонта [287, 288].

Нейтрофіли – це найчисленніші лейкоцити в пародонтальній кишені/ясенній щілині, а також у запалених тканинах пародонта. Вони утворюють «стіну» між зубним нальотом і з'єднувальним епітелієм, запобігаючи вторгненню мікроорганізмів [289]. Нейтрофіли сприяють нейтралізації хвороботворних мікроорганізмів, оскільки вони поглинають їх шляхом фагоцитозу і виділяють велику кількість вільних радикалів («респіраторний вибух»), які характеризуються вираженою бактерицидною дією [290]. Крім того, нейтрофільні гранули містять цілу низку речовин, які руйнують клітинну стінку бактерій (лізоцим, лактоферин), а також гідролітичні ензими (протеази, пептидази, оксидази, дезоксирибонуклеази та ліпази) [291].

Відомо, що знищення поглинених мікробів та вірусів фагоцитами відбувається з участю оксигенозалежних мікробоцидних механізмів, які реалізуються шляхом утворення ряду АФО ензимним комплексом, відомим як НАДФН-оксидаза (Nox) та їх впливом на поглинутий об'єкт. Зниження бактерицидної активності фагоцитів може сприяти виживанню бактерій, їх розмноженню та хронізації запального процесу [292].

В останні роки було відкрито новий механізм антибактеріального захисту – утворення «позаклітинних нейтрофільних пасток», основна функція яких, мабуть, полягає в евакуації молекулярних структур, пов'язаних із патогенами зубного нальоту [293]. Цей механізм реалізується через активне руйнування зв'язків ДНК – гістони, що призводить до швидкої деконденсації ДНК та захоплення сторонніх частинок вивільненим хроматином, декорованим токсичними протеїнами, які походять із нейтрофільних гранул [294, 295].

Тому важливим у розумінні патогенезу ГП є визначення функціонального стану нейтрофілів крові. Встановлено, що ЛПС-індукований пародонтит без супутньої патології у щурів супроводжується підвищенням фагоцитарної активності нейтрофілів крові з одночасним зменшенням їх поглинальної здатності. Зростання показників спонтанного й активованого НСТ-тесту за умови пародонтиту вказує на активацію оксигенозалежних механізмів мікробіцидності нейтрофілів крові.

Дані, які ми отримали, співзвучні з результатами інших дослідників, які визначали функціональний стан фагоцитів за умови пародонтиту. Так, Є.В. Мокренко та П.Д. Шабанов, які моделювали запально-дегенеративне ураження м'яких тканин пародонта у щурів, відзначили вірогідне збільшення фагоцитарного числа і показника завершеності фагоцитозу на тлі зниження кількості нейтрофілів, що беруть участь у фагоцитозі. Поряд із цим, показники спонтанного НСТ-тесту зросли на 63 %, а активованого – на 35 % [296]. Т.М. Ахкамова та співавтори, досліджуючи показники спонтанного НСТ-тесту в пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом, встановили, що у них вони були вірогідно вищими відносно здорових осіб, хоча і знижувалися в міру збільшення ступеня тяжкості захворювання [297]. Є дані, що за умови ГП середнього і тяжкого ступенів зростає кількість нейтрофілів у ротовій рідині з незавершеним фагоцитозом [298]. Збільшення кількості деструкторованих нейтрофілів із незавершеним фагоцитозом супроводжувалося підвищенням



позаклітинної пероксидазної активності в слині (маркер запалення), особливо вираженим при тяжкому ступені ГП. Крім того, встановлено, що поглинальна здатність фагоцитуючих поліморфноядерних лейкоцитів крові та ясен знижувалася на тлі високої активації клітин до фагоцитування [299].

Хронічна тіолактонова ГГЦ негативно впливає на функціональну і метаболічну активність нейтрофілів крові за умови ЛПС-індукованого пародонтиту, що підтверджується порушенням процесу фагоцитозу, більш вираженим зменшенням поглинальної здатності фагоцитів та виснаженням резервів цих клітин.

Вплив ГЦ на нейтрофіли мало вивчено. У нейтрофілах щурів Е. А. Bryushkova та співавтори визначили експресію N-метил-D-аспартатних рецепторів (NMDA-рецепторів) і наступний «респіраторний вибух» у відповідь на вплив ГЦ. Дослідники дійшли висновку, що експресія NMDA-рецепторів на мембрані нейтрофілів робить ці клітини чутливими до впливу ГЦ. Таким чином, ГЦ може спричиняти додаткову стимуляцію імунокомпетентних клітин [300].

R. Poddar та S. Paul відмітили, що ГЦ як агоніст взаємодіє з глутаматним сайтом NMDA-рецепторів, стимулює інтрацелюлярне надходження кальцію та активує низку кіназ [301].

Álvarez-Maqueda M. та співавтори продемонстрували, що ГЦ збільшує продукування супероксид аніона нейтрофілами у позаклітинне середовище і що цей ефект пригнічують СОД та інгібітор активності Nox – дифеніленіодоній [302]. Дослідники також встановили, що ГЦ збільшує внутрішньоклітинне продукування гідроген пероксиду нейтрофілами, посилює активацію і фосфорилування мітогенактивованих протеїнкіназ (МАРК), зокрема р38-МАРК та кінази, що регулюється позаклітинними сигналами 1/2 (ERK1/2), і що міграція нейтрофілів посилюється під впливом ГЦ.

Потребу в протеїнкіназі В (набір з трьох серин/треонін-специфічних протеїнкіназ – Akt) і передачі сигналів Erk1/2 для індукції «позаклітинних

нейтрофільних пасток» продемонстрували різні дослідники [303, 304], а М.В. Joshi та співавт. встановили індукцію Erk1/2 й Akt фосфорилування у нейтрофілах у відповідь на вплив ГЦ [305].

Прогресування ГП багато в чому визначається порушенням регуляторних механізмів клітинної проліферації, диференціювання та апоптозу слизової оболонки ясен під впливом численних факторів агресії [306, 307]. Різні патерни експресії генів та апоптозу також описали дослідники. Так, М. Kebschull та співавтори відзначили обмежені відмінності між профілями транскрипції тканин ясен при агресивному і хронічному пародонтиті, оскільки гени, пов'язані з імунними відповідями, апоптозом та передачею сигналів, були підвищено експресовані при агресивному пародонтиті, а гени, пов'язані з цілісністю епітелію і метаболізмом, – при хронічному [308].

Водночас надмірна активація нейтрофілів та гіперпродукування АФО як реакція на пародонтальні патогени можуть спричинити ушкодження тканин і прогресування пародонтиту [289].

Результати нашого дослідження показали, що ЛПС-індукований пародонтит без супутньої патології у щурів супроводжується гіперпродукуванням АФО нейтрофілами крові та зниженням їх  $\Delta\Psi_m$ , наслідками чого є порушення цілісності зовнішньої мітохондріальної мембрани і запуск апоптотичної загибелі клітин. Результати проведеного кореляційного аналізу свідчать про вірогідний взаємозв'язок між кількістю ANV<sup>+</sup>-клітин, кількістю клітин із підвищеною генерацією АФО та кількістю клітин із зниженим  $\Delta\Psi_m$ , що вказує на мітохондріальний шлях ініціації апоптозу нейтрофілів крові за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології.

Встановлено, що мітохондрії відіграють ключову роль у сигнальних шляхах клітинної загибелі шляхом зміни проникності мітохондріальної мембрани, утворюючи мітохондріальну пору та спричиняючи вивільнення цитохрому С, проапоптотичних факторів і перевантаження іонами Ca<sup>2+</sup>.

Генерація АТФ порушується, оскільки підвищений рівень  $\text{Ca}^{2+}$  ушкоджує мітохондрії, руйнуючи потенціал мітохондріальної мембрани [309].

Отримані дані узгоджуються з результатами спостережень інших дослідників, які повідомили про зв'язок між ушкодженням тканин пародонта, гіперпродукуванням АФО й апоптозом. Так, J.V. Matthews та співавтори продемонстрували збільшення позаклітинного вивільнення АФО *in vitro* без екзогенної стимуляції нейтрофілами крові, отриманими від пацієнтів із хронічним пародонтитом [310]. L. Golz та співавт. встановили, що ЛПС від *Porphyromonas gingivalis* та гіпоксія індуюють  $\text{Nox}_4$ -залежне збільшення вивільнення  $\text{H}_2\text{O}_2$  у фібробластах періодонтальної зв'язки, що може додатково сприяти розвитку та прогресуванню пародонтиту [311]. S. Oktay та співавт. спостерігали у щурів, які були інфіковані пародонтальними патогенами (суміш *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* і *Tannerella forsythia*), відносно контрольної групи п'ятикратне зростання індексу оксидативного стресу через підвищений рівень оксидантів у сироватці крові та зниження загальної антиоксидантної активності [312]. А.П. Парахонський та співавт., аналізуючи рівень основного маркера апоптозу клітин – цитохрому С у пацієнтів з пародонтитом, встановили, що вміст цього протеїну зростає на початкових стадіях пародонтиту і знижується на більш пізніх стадіях цього захворювання. Оскільки головними клітинними елементами ясенної (крівікулярної) рідини є лейкоцити, можна припустити, що виявлений під час дослідження цитохром С має лейкоцитарне походження [313]. А.К. Саркисов та співавтори обстежили 40 пацієнтів з ГП без загальносоматичної патології і встановили підвищення рівня маркера апоптозу – анексину V у ротовій рідині [314]. Для визначення взаємозв'язку апоптотичних процесів і стану тканин пародонта дослідники провели кореляційний аналіз, за результатами якого виявили статистично вірогідні взаємозв'язки середньої сили між рівнем анексину V і значенням пародонтальних індексів, що відображає роль інтенсифікації апоптозу в прогресуванні запально-деструктивних змін пародонта.

Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює ініціацію програмованої загибелі клітин, що підтверджується вірогідним переважанням кількості нейтрофілів крові з ознаками апоптозу на 71,4 % у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі ГГЦ відносно ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології та з наявністю вірогідних кореляційних взаємодій між рівнем ГЦ у сироватці крові та кількістю ANV<sup>+</sup>/PI<sup>+</sup>-клітин, кількістю нетрофілів з підвищеною генерацією АФО та кількістю нетрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$  за умови поєднаної патології.

Можна припустити, що надлишок АФО та порушення проникності внутрішньої мембрани мітохондрій, що відбувається через зниження трансмембранного потенціалу, є одним із важливих сигнальних шляхів запуску програмованої клітинної смерті як за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, так і при поєднанні пародонтиту і хронічної тіолактонової ГГЦ.

Молекулярні механізми, які лежать в основі проапоптотичного ефекту ГЦ, ще недостатньо вивчено. Індукована гомоцистеїном мітохондріальна дисфункція може бути важливим молекулярним механізмом, який опосередковує апоптоз. ГЦ часто може зумовлювати мобілізацію внутрішньоклітинного Ca<sup>2+</sup> і стресу ендоплазматичного ретикулума, що в подальшому спричиняє розвиток апоптотичних змін [315]. Більше того, послідовний вихід цитохрому С із мітохондрій, а також АФО активує шлях каспази-3, що призводить до апоптозу, тобто фрагментації ДНК. R.F. Huang та співавт. встановили, що ГЦ-тіолактон викликає апоптотичне ушкодження ДНК, опосередковане підвищеною внутрішньоклітинною генерацією H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> та активацією каспази-3 в лінії клітин HL-60 [316].

I.I. Kruman та співавтори показали, що концентрація ГЦ впливає на величину і швидкість розвитку апоптозу в експерименті. Зокрема, концентрація ГЦ 250 мкмоль викликала апоптоз практично всіх нейронів гіпокампа в культурі клітин протягом 28 год, а концентрація 0,5 мкмоль (що є нормою *in*

*vivo*) в тому ж експерименті зумовлювала апоптоз лише в 40 % нейронів упродовж 96–144 год [317].

Х.М. Вао та співавтори продемонстрували ГЦ-індукований апоптоз у клітинах-попередниках ендотеліоцитів, що може бути пов'язано з його прооксидантним впливом, а також з підвищенням експресії протеїну p38MAPK і активності каспази-3 [318].

М.М. Alam та співавтори також показали, що ГЦ-індукований апоптоз ендотеліальних клітин асоціюється з вивільненням каспази-8, цитохрому С і активацією каспази-3 [319]. Є дані, що ГЦ індукує мітохондріальний апоптоз у клітинній культурі SH-SY5Y [320] та первинних культурах цито- і синцитіотрофобластних клітин [321].

W.K. Kim та Y.S. Paе переконливо продемонстрували дозозалежну токсичність ГЦ на культурі нейронів мозочка. ГЦ у дозі більше ніж 300 мкмоль активував NMDA-рецептори впродовж 16–22 год, зумовлюючи збільшення генерації вільних радикалів та ініціацію апоптозу [322].

М. Fang та співавтори з'ясували, що при інкубації з ГЦ життєздатність клітинної лінії нейробластоми Neuro2a знижувалася дозозалежним чином, апоптоз розвивався впродовж 48 год. Середня ефективна концентрація ГЦ становила приблизно 5 ммоль. Ядерну транслокацію та ацилювання гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази було відмічено в регуляції апоптозу [323].

J. Chen та співавтори описали ГЦ-індукований апоптоз у меланоцитах, опосередкований АФО і стресіндукованим протеїном ендоплазматичного ретикулума – РНК-подібною ER кіназою (PERK), еукаріотичним фактором трансляції, а саме ініціації, 2-альфа (eIF2) і С/EBP гомологічним протеїном (CHOP) – (PERK–eIF2 $\alpha$ –CHOP сигнальний шлях) [324].

Z. Zhang та співавтори запропонували сигнальний шлях, в якому ГЦ несприятливо впливає на функцію мітохондрій і стрес ендоплазматичного ретикулума ендотеліальних клітин пупкової вени людини (HUVECs) [108].

Дослідники встановили, що ГЦ зумовлює мітохондріальну дисфункцію шляхом зниження експресії антиапоптотичного протеїну – Bcl-2 і потенціалу мітохондріальної мембрани та збільшення генерації мітохондріальних АФО, що викликає підвищення рівнів цитоплазматичного цитохрому С, цитоплазматичних АФО і каспази-3, що, у свою чергу, спричиняє апоптоз HUVECs. Водночас ГЦ активує PERK, зумовлює фосфорилування eIF2 $\alpha$  і в кінці індукує експресію активуючого транскрипційного фактора 4 та CHOP, таким чином сприяючи апоптозу HUVECs, і модулює активацію NF- $\kappa$ B. Крім того, накопичені цитоплазматичні АФО можуть викликати продукування протеїнів з порушеною просторовою структурою, спричиняючи, таким чином, стрес ендоплазматичного ретикулума.

Провідну роль у патогенезі ГП відіграють порушення кісткового метаболізму, який підтримується за рахунок рівноваги процесів резорбції (опосередкованої остеокластами) і формування кісткової тканини (опосередкованої остеобластами), що відображають зміни «кісткового обороту» [325]. Ряд факторів впливає та координує ремоделювання кістки як на системному, так і на місцевому рівнях, забезпечуючи усунення мікрошкоджень у кістковому матриксі, збереження мікроархітекtonіки кістки та підтримання її міцності.

Дія регуляторів, що впливають на кістковий метаболізм, реалізується через основні сигнальні шляхи остеобластогенезу (канонічний шлях Wnt-сигналізації, в основі якого лежить стабілізація цитоплазматичного протеїну  $\beta$ -катеніну) та остеокластогенезу (система рецептор-активатор ліганду транскрипційного фактора NF- $\kappa$ B (RANKL)/рецептор-активатор ядерного фактора  $\kappa$ B (RANK)/фактор, що інгібує остеокластогенез [326-329].

RANKL, експресований на поверхні остеобластів, зв'язується з RANK-рецептором, що розташований на мембранах клітин-попередників остеокластів. Це запускає диференціацію та активацію остеокластів. Взаємодія RANKL і RANK відбувається за наявності макрофагального

колоніестимулювального фактора, який через високоафінний трансмембранний рецептор активує внутрішньоклітинну тирозинкіназу та стимулює таким чином проліферацію і диференціацію попередників остеокластів – мононуклеарів [329].

Серед маркерів кісткового метаболізму відносно широко визначають активність фосфатаз. У кістковій тканині лужну фосфатазу (ЛФ) синтезують остеобласти та їх попередники, вона бере участь у мінералізації кісткового матриксу. Активність лужної фосфатази інтерпретують як показник утворення кісткової тканини. Кисла фосфатаза (КФ) – лізосомальний ензим, який характеризує активність остеокластів та відображає процеси деградації кісткового матриксу.

Індуковане ЛПС запалення пародонта без супутньої патології у щурів супроводжується зниженням активності ЛФ й індексу мінералізації (ІМ) з одночасним підвищенням активності КФ в гомогенаті пародонта, що свідчить про пригнічення синтетичних процесів у кістковій тканині та активацію реакцій остеорезорбції. Водночас спостерігають порушення кальцій-фосфорного обміну, що проявляється вірогідним збільшенням вмісту загального кальцію у сироватці крові.

Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює порушення кісткового метаболізму за умови пародонтиту, що підтверджується більш вираженими змінами досліджуваних показників відносно щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології. Щодо кальцій-фосфорного обміну, то хронічна тіолактонова ГГЦ посилює мінеральний дисбаланс при ЛПС-індукованому пародонтиті, що підтверджується не лише більш вираженою гіперкальціємією щодо тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології, а й гіперфосфатемією.

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено пряму кореляційну взаємодію високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові й активністю КФ у сироватці крові та пряму

кореляційну взаємодію помірної сили між рівнем ГЦ у сироватці крові й активністю КФ в гомогенаті пародонта, що підтверджує вплив хронічної тіолактонової ГГЦ на кісткове ремоделювання, особливо процеси остеорезорбції.

В експериментальних дослідженнях показано, що порушення обміну ГЦ негативно впливає на процес репарації стегнової кістки. Ю.О. Безсмертний відзначив, що за умов ГГЦ посилювалися процеси резорбції кісткової тканини, сповільнювалось утворення кісткової мозолі, пригнічувалося колагеноутворення [330].

Т.Р. Васек та співавтори припустили, що на додаток до прямого впливу ГГЦ на кістковий матрикс ГЦ може модулювати ремоделювання кісткової тканини за рахунок підвищення активності остеокластів та зниження активності остеобластів [331].

ГЦ також може безпосередньо впливати на утворення остеокластів. Було продемонстровано, що він проявляє потужну стимулювальну дію на оксидантні сигнальні шляхи, тоді як остеокласти, як відомо, чутливі до зростання рівня АФО [332]. Досліди *in vitro* щодо збагачення поживного середовища ГЦ для культури клітин кісткового мозку продемонстрували, що в цих клітинах підвищена регуляція утворення остеокластів і знижена регуляція апоптозу спричинені посиленням продукуванням АФО [333].

Підвищений рівень ГЦ також порушує баланс фосфорилювання і дефосфорилювання протеїнкіназ, що беруть участь у ремоделюванні кісткових клітин; це, у свою чергу, може зумовити загальні порушення молекулярних механізмів в остеокластах кісткового мозку. Зокрема, було встановлено, що ГЦ збільшує фосфорилювання p38MAPK, опосередковане RANKL [333].

Пацієнти з ГГЦ мають більший ризик переломів через зниження мінеральної щільності кісткової тканини внаслідок резорбції кістки, спричиненої підвищеною активністю остеокластів [94]. Крім того, оскільки у



стромальних клітинах кісткового мозку людини збільшений рівень ГЦ активує каспазозалежний шлях апоптозу, це також призводить до порушення відновлення кістки [334]. Резорбція кістки сповільнюється у несприятливих оксидативних середовищах, які активуються у зв'язку із зв'язуванням ГЦ як ліганду з ядерним транскрипційним фактором – пероксисомальним проліфераторактивуючим рецептором  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ), що експресується в кісткових клітинах [335]. Результати дослідження, проведеного на моделі мишей з ГГЦ, показали інгібування PPAR- $\gamma$ , тканинного інгібітора MMP-4 й антиоксиданта тіоредоксину з одночасною активацією MMP-9 і Nox4 [336].

Під час деяких досліджень було встановлено вірогідні кореляції між рівнем ГЦ і біохімічними маркерами метаболізму кісткової тканини у сироватці крові, такими, як дезоксипіридинолін [337] та С-кінцевий телопептид колагену типу I [338].

Однак вплив ГЦ на активність остеобластів вивчено порівняно мало. Остеобласти беруть участь у формуванні кісткової тканини, і в дослідженнях *in vitro* продемонстровано, що підвищена концентрація ГЦ викликає помірне збільшення активності первинних остеобластів людини [339]. Було показано, що в клітинній лінії HS-5 ГЦ індукує апоптоз у первинних стромальних клітинах кісткового мозку людини, активованих NF- $\kappa$ B, через мітохондріальний шлях, опосередкований АФО. Витік цитохрому С із мітохондрій з подальшою активацією каспази-3 і каспази-9 може зумовлювати апоптотичний ефект на остеобласти [94].

Пригнічення активності остеобластів підтверджується зниженням на 40 % рівня остеокальцину в крові щурів із ГГЦ щодо контролю [340].

Більше того, у кістковій тканині щурів із ГГЦ спостерігають підвищене накопичення ГЦ, причому 65 % цього ГЦ було зв'язано з колагеном позаклітинного матриксу [341]. Накопичення ГЦ призвело до появи «губчастої» кістки та зменшення міцності кістки. Це специфічне для кісток накопичення

ГЦ, імовірно, є одним із механізмів, що лежать в основі негативного впливу ГГЦ на кісткову тканину.

Отже, остеотоксичний ефект ГГЦ пов'язаний з активацією остеокластогенезу, посиленням резорбції кістки та специфічним накопиченням ГЦ у кістковій тканині. Однак, цілком імовірно, існують інші механізми негативного впливу ГГЦ на кістковий метаболізм, що потребує подальших досліджень.

Індуковане ЛПС запалення тканин пародонта без супутньої патології у щурів супроводжується катаболізмом СТ, про що свідчать вірогідне підвищення колагенолітичної активності, збільшення вмісту вільного оксипроліну, зростання вмісту маркерів деструкції глікопротеїнів – сіалових кислот та вільної фукози, підвищення вмісту маркерів розпаду протеогліканів – глікозаміногліканів (ГАГ) у сироватці крові.

Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює деструкцію СТ за умови пародонтиту, що підтверджується вірогідним перевищенням показників колагенолітичної активності, вмісту ГАГ та сіалових кислот відносно тварин із ЛПС-індукованим запаленням без супутньої патології. Проведений кореляційний аналіз між рівнем ГЦ та показниками катаболізму сполучної тканини у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявив низку вірогідних взаємодій, що підтверджує вплив високого рівня ГЦ на дезорганізацію структур колагену та деполімеризацію компонентів органічного матриксу сполучної тканини.

За умови хронічної ГГЦ посилюється експресія ММР-9 мітохондріального матриксу, яка контролює якість СТ (співвідношення колаген/еластин) [258]. Крім того, є дані, що ГЦ-тіолактон, наявний у тканинах, інгібує експресію мРНК лізин 6-оксидази – ключового ензиму посттрансляційної модифікації СТ, що призводить до порушення її структури [86, 342].

Отже, на основі отриманих результатів та даних літератури можна стверджувати, що при хронічній гіпергомоцистеїнемії створюються умови для посилення прозапального ефекту ліпополісахариду і виникнення запалення в пародонті, зокрема виникає оксидативний стрес, ендогенна інтоксикація, порушується функціональна і метаболічна активність нейтрофілів крові, посилюється ініціація програмованої загибелі клітин, підвищується катаболізм сполучної тканини та виникають зміни метаболізму кісткової тканини, які супроводжуються мінеральним дисбалансом.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі теоретично узагальнено і по-новому вирішено наукове завдання, що знайшло віддзеркалення у з'ясуванні закономірностей перебігу ЛПС-індукованого пародонтиту у щурів на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ. Це наукове завдання вирішено шляхом дослідження метаболізму кісткової та сполучної тканин, цитокіногенезу, вираженості запалення, функціональної і метаболічної активності нейтрофілів крові, енергозабезпечувального окиснення, реалізації програмованої загибелі нейтрофілів крові, пероксидного окиснення ліпідів і протеїнів, антиоксидантного захисту, вираженості ендогенної інтоксикації та встановлення взаємозв'язків між рівнем ГЦ у сироватці крові і ступенем тяжкості запальних і деструктивних процесів у тканинах пародонта.

1. ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується вірогідним зростанням вмісту реактанта гострої фази запалення – СРП, як у гомогенаті пародонта (в 2,2 раза;  $p=0,003$ ), так і у сироватці крові (на 56,7 %;  $p=0,018$ ) та гіперпродукцією прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) на тлі зниження вмісту протизапальних цитокінів (IL-4, IL-10), що відіграє важливу роль в прогресуванні пародонтиту та запуску метаболічних каскадних реакцій. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює продукцію СРП та цитокіновий дисбаланс за умови пародонтиту, що підтверджується переважанням вмісту СРП на 82,8 % ( $p=0,009$ ) та вмісту TNF- $\alpha$  в 2,3 раза ( $p<0,001$ ) у гомогенаті пародонта тварин з поєднаною патологією відносно щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології. Проведений кореляційний аналіз виявив вірогідні прямі кореляційні взаємодії високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом СРП і TNF- $\alpha$ , як у сироватці крові ( $r=0,78$ ;  $p=0,003$  і  $r=0,76$ ;  $p=0,004$  відповідно), так і у гомогенаті пародонта ( $r=0,85$ ;  $p<0,001$  і  $r=0,78$ ;  $p=0,003$  відповідно).

2. ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується вірогідним підвищенням інтенсивності процесів ПОЛ та ОМП на тлі зниження функціональної активності антиоксидантного захисту як у гомогенаті пародонта, так і у крові. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює оксидативний стрес за умови пародонтиту, на що вказують вірогідно вищі значення ТБК-АП та ОМП як у сироватці крові, так і у гомогенаті пародонта відносно ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології та низка вірогідних кореляційних взаємодій між рівнем ГЦ у сироватці крові та показниками пероксидації ліпідів та протеїнів.

3. Інтенсифікація реакцій пероксидації за умови ЛПС-індукованого пародонтиту супроводжується підвищенням рівня ендогенної інтоксикації, на що вказує зростання вмісту МСМ як на системному, так і локальному рівнях. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює ендогенну інтоксикацію при ЛПС-індукованому пародонтиті на що вказують вірогідно вищі значення вмісту МСМ<sub>1</sub> і МСМ<sub>2</sub> у досліджуваних біологічних рідинах за умови поєднаної патології та прямі кореляційні взаємодії між рівнем ГЦ у сироватці крові і вмістом МСМ<sub>1</sub> і МСМ<sub>2</sub> не лише у сироватці крові ( $r=0,79$ ;  $p=0,002$  і  $r=0,84$ ;  $p=0,001$  відповідно), але й у гомогенаті пародонта ( $r=0,62$ ;  $p=0,030$  і  $r=0,80$ ;  $p=0,002$  відповідно).

4. ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується підвищенням фагоцитарної активності нейтрофілів крові з одночасним зменшенням їх поглинаючої здатності та активацією оксиген-залежних механізмів мікробіцидності нейтрофілів крові. Хронічна тіолактонова ГГЦ негативно впливає на функціональну та метаболічну активність фагоцитів за умови пародонтиту, що підтверджується порушенням процесу фагоцитозу, більш вираженим зменшенням поглинаючої здатності нейтрофілів крові та виснаженням резервів цих клітин.

5. ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується гіперпродукцією АФО (на 87,9 %;  $p=0,001$ ) і зниженням  $\Delta\psi_m$  (на 73,3 %;

$p=0,001$ ), наслідком чого є порушення цілісності зовнішньої мітохондріальної мембрани та запуск апоптотичної загибелі нейтрофілів крові. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює ініціацію програмованої загибелі клітин, що підтверджується вірогідним переважанням кількості нейтрофілів крові з ознаками апоптозу на 71,4 % відносно тварин з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології та наявністю вірогідних кореляційних взаємодій між рівнем ГЦ у сироватці крові та кількістю ANV<sup>+</sup>/PI<sup>+</sup>- клітин ( $r=0,65$ ;  $p=0,022$  і  $r=0,66$ ;  $p=0,020$  відповідно), кількістю нетрофілів із підвищеною генерацією АФО ( $r=0,82$ ;  $p=0,001$ ) та кількістю нетрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$  ( $r=0,65$ ;  $p=0,022$ ) за умови поєднаної патології.

6. ЛПС-індуковане запалення тканин пародонта у щурів супроводжується катаболізмом сполучної тканини, про що свідчить вірогідне підвищення колагенолітичної активності, збільшення вмісту вільного оксипроліну, зростання вмісту маркерів деструкції глікопротеїнів – сіалових кислот та вільної фукози, підвищення вмісту маркерів розпаду протеогліканів – ГАГ у сироватці крові. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює деструкцію сполучної тканини за умови пародонтиту, що підтверджується вірогідним перевищенням показників колагенолітичної активності (в 2,5 раза;  $p=0,009$ ), вмісту ГАГ (на 61,7 %;  $p=0,007$ ) та сіалових кислот (на 65,5 %;  $p=0,008$ ) відносно тварин з ЛПС-індукованим запаленням без супутньої патології.

7. ЛПС-індуковане запалення пародонта у щурів супроводжується зниженням активності ЛФ (на 40,1 %;  $p=0,001$ ) та індексу мінералізації (в 3,5 раза;  $p<0,001$ ) з одночасним підвищенням активності КФ (в 2,0 рази;  $p<0,001$ ) у гомогенаті пародонта, що свідчить про пригнічення синтетичних процесів у кістковій тканині й активацію реакцій остеорезорбції. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює порушення кісткового метаболізму за умови пародонтиту, що підтверджується більш вираженими змінами досліджуваних показників відносно тварин з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної

тіолактонової ГГЦ виявлено пряму кореляційну взаємодію високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові і активністю КФ у сироватці крові ( $r=0,89$ ;  $p<0,001$ ) та пряму кореляційну взаємодію помірної сили між рівнем ГЦ у сироватці крові і активністю КФ у гомогенаті пародонта ( $r=0,66$ ;  $p=0,019$ ), що підтверджує вплив хронічної тіолактонової ГГЦ на кісткове ремоделювання, особливо на процеси остеорезорбції.

8. Порушення кісткового метаболізму за умови ЛПС-індукованого запалення пародонта у щурів супроводжується порушенням кальцій-фосфорного обміну, що проявляється підвищенням вмісту загального кальцію в сироватці крові на 10,9 % ( $p=0,035$ ). Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює мінеральний дисбаланс за умови пародонтиту, що підтверджується не лише більш вираженою гіперкальціємією відносно тварин з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології, а й гіперфосфатемією.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бургонський В. Г., Миколайчук С. І. Сучасні можливості застосування лазерних технологій у лікуванні генералізованих захворювань пародонта: виклики, перспективи, переваги. *Сучасна стоматологія*. 2018. № 5. С. 20–22.
2. Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis – a comprehensive review / J. E. Frencken, P. Sharma, L. Stenhouse et al. *J. Clin. Periodontol.* 2017. Vol. 44 (Suppl. 18). P. S94–S105.
3. Periodontitis Prevalence, Severity, and Risk Factors: A Comparison of the AAP/CDC Case Definition and the EFP/AAP Classification / M. Germen, U. Baser, C. C. Lacin et al. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2021. Vol. 18. P. 3459.
4. Economic Burden of Periodontal Disease in Europe and the United States of America – An updated forecast / J. Botelho, L. Proença, Y. Leira et al. *J. Periodontol.* 2022. Vol. 93, № 3. P. 373–379.
5. Butt K., Butt R., Sharma P. The burden of periodontal disease. *Dental Update*. 2019. Vol. 46, № 10. P. 907–913.
6. Periodontitis and cardiovascular diseases: Consensus report / M. Sanz, A. Marco Del Castillo, S. Jepsen et al. *J. Clin. Periodontol.* 2020. Vol. 47, № 3. P. 268–288.
7. Oral diseases: a global public health challenge / M. A. Peres, L. M. D. Macpherson, R. J. Weyant et al. *Lancet*. 2019. Vol. 394, № 10194. P. 249–260.
8. Association Between Periodontal Disease and Atherosclerotic Cardiovascular Diseases: Revisited / F. Zardawi, S. Gul, A. Abdulkareem et al. *Front. Cardiovasc. Med.* 2021. Vol. 7. P. 625579.
9. Попович І. Ю., Петрушанко Т. О. Можливості лікування пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом. *Вісник стоматології*. 2020. № 2 (111). С. 27–33.



10. Мащенко І. С., Гудар'ян О. О., Кучеренко Т. О. Клінічні, імунологічні та метаболічні особливості загостреного і швидко прогресуючого варіантів генералізованого пародонтита. *Сучасна стоматологія*. 2020. № 4. С. 26–32.
11. Коленко Ю. Г., Воловик І. А., М'ялківський К. О. Вплив захворювань тканин пародонта на якість життя пацієнтів. *Сучасна стоматологія*. 2021. № 2 С. 36–42.
12. Костура В. Л., Безвужко Е. В. Поширеність та структура захворювань тканин пародонта у дітей із надмірною масою тіла. *Клінічна стоматологія*. 2017. № 2 С. 42–47.
13. AlJehani Y. A. Risk factors of periodontal disease: review of the literature. *Int. J. Dent*. 2014. Vol. 2014. P. 182513.
14. Наумова В. Н., Туркина С. В., Маслак Е. Е. Взаимосвязь стоматологических и соматических заболеваний: обзор литературы. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2016. № 2. С. 25–28.
15. Леонтьева Е. Ю., Быковская Т. Ю., Киреев В. В. Анализ коморбидности стоматологической и общесоматической патологии медицинских работников. *Современные проблемы науки и образования*. 2017. № 4. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26661>
16. Проданчук А. І., Кіюн І. Д., Кройтор М. О. Захворювання пародонта і соматична патологія. *Буковинський медичний вісник*. 2012. Т. 16, № 2 (62). С. 164–169.
17. Pathogenetic mechanisms of comorbidity of systemic diseases and periodontal pathology / O. M. Nemesh, Z. M. Honta, O. M. Slaba, I. V. Shylivskyi. *Wiad. Lek*. 2021. Vol. 74, № 5. P. 1262–1267.
18. Особливості місцевого імунітету порожнини рота у хворих на генералізований пародонтит і супутні загальні захворювання / А. В. Борисенко, Ю. Г. Коленко, Л. В. Ліновицька та ін. *Сучасна стоматологія*. 2019. 5. С. 34–39.

19. Особливості обміну гомоцистеїну та гідроген сульфїду в центральній нервовій системі / П. О. Юрченко, А. В. Мельник, Н. В. Заїчко, М. М. Йолтухівський. *Медична хімія*. 2014. Т. 3, № 60. С. 90–96.
20. Вплив хронічної гіпергомоцистеїнемії на метаболізм сірковмісних амінокислот у нирках щурів при гіпер- та гіпотиреозі / В. М. Нечипорук, Н. В. Заїчко, А. В. Мельник та ін. *Вісник наукових досліджень*. 2019. № 1. С. 97–102.
21. Ganguly P., Alam S. F. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutr. J.* 2015. Vol. 14. P. 6.
22. McCully K. S. Homocysteine and the pathogenesis of atherosclerosis. *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* 2015. Vol. 8. P. 1–9.
23. Hyperhomocysteinemia and cardiovascular disease: Is the adenosinergic system the missing link? / F. Paganelli, G. Mottola, J. Fromonot et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22, № 4. P. 1690.
24. Некрут Д. О. Вплив гіпергомоцистеїнемії на формування неалкогольної жирової хвороби печінки у щурів. *Вісник морфології*. 2016. № 1, т. 22. С. 40–45.
25. Smith A. D., Refsum H. Homocysteine—from disease biomarker to disease prevention. *J. Intern. Med.* 2021. Vol. 290, № 4. P. 826–854.
26. Cysteine and homocysteine as biomarker of various diseases / T. Rehman, M. A. Shabbir, M. Inam-Ur-Raheem et al. *Food Sci. Nutr.* 2020. Vol. 8, № 9. P. 4696–4707.
27. Involvements of hyperhomocysteinemia in neurological disorders / M. Cordaro, R. Siracusa, R. Fusco et al. *Metabolites*. 2021. Vol. 11, № 1. P. 37.
28. Hyperhomocysteinemia: Focus on endothelial damage as a cause of erectile dysfunction / G. Salvio, A. Ciarloni, M. Cutini, G. Balercia. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22, № 1. P. 418.
29. Медведев Д. В., Звягина В. И., Фомина М. А. Способ моделирования тяжелой формы гипергомоцистеинемии у крыс. *Рос. медико-биол. вест. им.*

акад. И. П. Павлова. 2014. № 4. С. 42–46.

30. Bhardwaj S., Prabhuji M., Karthikeyan B. Effect of non-surgical periodontal therapy on plasma homocysteine levels in Indian population with chronic periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 2015. Vol. 42, № 3. P. 221–227.

31. Slebioda Z., Szponar E., Dorocka-Bobkowska B. Vitamin D and its relevance in the etiopathogenesis of oral cavity. *Diseases Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2016. Vol. 64, № 5. P. 385–397.

32. Mallapragada S., Kasana J., Agrawal P. Effect of Nonsurgical Periodontal Therapy on Serum Highly Sensitive Capsule Reactive Protein and Homocysteine Levels in Chronic Periodontitis: A Pilot Study. *Contemp. Clin. Dent.* 2017. Vol. 8, № 2. P. 279–285.

33. Penmetsa G. S., Bhaskar R. U., Mopidevi A. Analysis of plasma homocysteine levels in patients with chronic periodontitis before and after nonsurgical periodontal therapy using high-performance liquid chromatography. *Contemp. Clin. Dent.* 2020. Vol. 11, № 3. P. 266–273.

34. Periodontal Inflamed Surface Area Mediates the Link between Homocysteine and Blood Pressure / J. Botelho, V. Machado, Y. Leira et al. *Biomolecules.* 2021. Vol. 11, № 6. P. 875.

35. Is there a relationship between dental and/or periodontal pathology and values of C-reactive protein, homocysteine and lipoprotein (a) in patients with cardiovascular disease? A Case Control Study / B. G. Navarro, E. J. Salas, J. L. López, X. P. Sala. *Journal of Current Medical Research and Opinion.* 2020. Vol. 3, № 05. P. 451–458.

36. Gut microbiota and the periodontal disease: role of hyperhomocysteinemia / D. Stanisic, M. Jovanovic, A. K. George et al. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2021. Vol. 99, № 1. P. 9–17.

37. Эффективность адаптогенов при экспериментальном пародонтите на фоне гипергомоцистеинемии / Е. М. Кривошеева, Е. В. Фефелова, И. И. Бородулина и др. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2010. № 3 (73). С. 221–225.

38. Нечипорук В. М., Заїчко Н. В., Корда М. М. Вплив тиреоїдних гормонів на процеси реметилування та транссульфування сірковмісних амінокислот в органах щурів. *Медична та клінічна хімія*. 2017. Т. 19, № 1 С. 12–18.
39. Копильчук Г. П., Бучковська І. М., Островська Ю. К. Особливості транссульфування гомоцистеїну в гепатоцитах щурів за умов білкової недостатності. *Біологічні системи*. 2015. Т. 7, вип. 2. С. 156–162.
40. Brosnan J. T., Brosnan M. E. The sulfur-containing amino acids: an overview. *J. Nutr.* 2006. Vol. 136, № 6. P. 1636S–1640S.
41. Sulphur-containing Amino Acids: Protective Role Against Free Radicals and Heavy Metals / M. B. Colovic, V. M. Vasic, D. M. Djuric, D. Z. Krstic. *Curr. Med. Chem.* 2018. Vol. 25, № 3. P. 324–335.
42. Palego L., Betti L., Giannaccini G. Sulfur Metabolism and Sulfur-Containing Amino Acids: I- Molecular Effectors. *Biochem. Pharmacol. (Los Angel.)*. 2015. Vol. 3. P. 158.
43. Яновська Г. О., О. Я. Гречаніна, Ю. Б. Гречаніна Амінокислоти в патогенезі перинатальної гіпоксично-ішемічної енцефалопатії. *Вісник наукових досліджень*. 2017. № 2. С. 143–147.
44. Гонський Я. І., Максимчук Т. П. Біохімія людини : підручник для студ. вищ. мед. навч. закладів 3-4 рівнів акредитації ; ред. Я. І. Гонський. 3-тє вид., випр. і допов. Тернопіль : Укрмедкнига, 2019. 732 с.
45. Оболенська М. Ю., Родрігес Р. Р., Марценюк О. П. Фолатзалежні процеси у плаценті людини: експресія генів, амінотіоли, проліферація і апоптоз. *Укр. біохім. журн.* 2011. Т. 83, № 1. С. 5–17.
46. Bin P., Huang R., Zhou X. Oxidation Resistance of the Sulfur Amino Acids: Methionine and Cysteine. *Biomed. Res. Int.* 2017. Vol. 2017. P. 9584932.
47. Hyperhomocysteinemia as a Risk Factor and Potential Nutraceutical Target for Certain Pathologies / C. Tinelli, A. Di Pino, E. Ficulle et al. *Front. Nutr.* 2019. Vol. 6. P. 49.

48. Mudd S. H. Homocysteine and Its Disulfide Derivatives. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000. Vol. 20, № 7. P. 1704–1706.
49. Prevalence and predictors of low vitamin B6 status in healthy young adult women in metro vancouver / C. Ho, T. Quay, A. Devlin, Y. Lamers. *Nutrients.* 2016. Vol. 8, № 9. P. 538.
50. Бутенко А. В. Гомоцистеин: влияние на биохимические процессы в организме человека. *Молодой ученый.* 2016. № 1. С. 78–82.
51. Insight into S-adenosylmethionine biosynthesis from the crystal structures of the human methionine adenosyltransferase catalytic and regulatory subunits / N. Shafqat, J. R. C. Muniz, E. S. Pilka et al. *Biochem. J.* 2013. Vol. 452, № 1. P. 27–36.
52. Blom H. J., Smulders Y. Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2011. Vol. 34, № 1. P. 75–81.
53. Increase in plasma homocysteine associated with parallel increases in plasma S-adenosylhomocysteine and lymphocyte DNA hypomethylation / P. Yi, S. Melnyk, M. Pogribna et al. *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275, № 38. P. 29318–29323.
54. Щербицкая А. Д. Влияние пренатальной гипергомоцистеинемии на метаболизм биогенных аминов в онтогенезе самок крыс : дисс. ... канд. биол. наук : 03.01.04. Санкт-Петербург, 2019. 162 с.
55. The metabolism and significance of homocysteine in nutrition and health / A. Kumar, H. A. Palfrey, R. Pathak et al. *Nutr Metab.* 2017. Vol. 14. P. 78.
56. Homocysteine metabolism, hyperhomocysteinaemia and vascular disease: an overview / R. Castro, I. Rivera, H. J. Blom et al. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2006. Vol. 29, № 1. P. 3–20.
57. Neuregulin 1 Promotes Glutathione Dependent Neuronal Cobalamin Metabolism by Stimulating Cysteine Uptake / Y. Zhang, N. Hodgson, M. Trivedi, R. Deth. *Oxid Med Cell Longev.* 2016. Vol. 2016. P. 3849087.

58. Lai W. K. C., Kan M. Y. Homocysteine-Induced Endothelial Dysfunction. *Ann. Nutr. Metab.* 2015. Vol. 67, № 1. P. 1–12.
59. Chubarov A. S. Homocysteine Thiolactone: Biology and Chemistry. *Encyclopedia.* 2021. Vol. 1. P. 445–459.
60. Jakubowski H. Molecular basis of homocysteine toxicity in humans. *Cell. Mol. Life Sci.* 2004. Vol. 61, № 4. P. 470–487.
61. Jakubowski H., Głowacki R. Chemical Biology of Homocysteine Thiolactone and Related Metabolites. *Adv. Clin. Chem.* 2011. Vol. 55. P. 81–103.
62. Jakubowski H. Homocysteine modification in protein structure/function and human disease. *Physiol. Rev.* 2019. Vol. 99, № 1. P. 555–604.
63. Юрченко П. О. Вплив ізольованої гіпергомоцистеїнемії на систему гідроген сульфїду в головному мозку щурів. *Вісник проблем біології і медицини.* 2015. Вип. 2, т. 3 (120). С. 252–256.
64. H<sub>2</sub>S signaling in redox regulation of cellular functions / Y. Ju, W. Zhang, Y. Pei, G. Yang. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2013. Vol. 91, № 1. P. 8–14.
65. Газотрансмиттер сероводород и пищеварительная система / О. И. Сукманский, В. Н. Гороховский, И. Н. Шухтина, И. О. Сукманский. *Вісник стоматології.* 2015. № 3. С. 89–92.
66. Abe K., Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J. Neurosci.* 1996. Vol. 16, № 3. P. 1066–1071.
67. Sen N. Functional and Molecular Insights of Hydrogen Sulfide Signaling and Protein Sulfhydration. *J. Mol. Biol.* 2017. Vol. 429, № 4. P. 543–561.
68. Endogenous sulfur dioxide: A new member of gasotransmitter family in the cardiovascular system / Y. Huang, C. Tang, J. Du, H. Jin. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2016. Vol. 2016. P. 8961951.
69. Сукманський О. І. Сірковмісні газові сигнальні молекули. *Фізіол. журн.* 2017. Т. 63, № 6. С. 106–117.
70. Implications of hydrogen sulfide in liver pathophysiology: Mechanistic insights and therapeutic potential / H. J. Sun, Z. Y. Wu, X. W. Nie et al.

*J. Advanced Research*. 2021. Vol. 27. P. 127–135.

71. Loisel J. J., Yang G., Wu L. Hydrogen sulfide and hepatic lipid metabolism – a critical pairing for liver health. *Br. J. Pharmacol.* 2020. Vol. 177, № 4. P. 757–768.

72. Kimura H. Hydrogen sulfide and polysulfides as signaling molecules. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 2015. Vol. 91, № 4. P. P. 131–159.

73. Shibuya N., Kimura H. Production of hydrogen sulfide from d-cysteine and its therapeutic potential. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2013. Vol. 4. P. 87.

74. Lowicka E., Beltowski J. Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) – the third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacological Reports*. 2007. Vol. 59, № 1. P. 4–24.

75. Hydrogen sulfide: metabolism, biological and medical role / N. V. Zaichko, A. V. Melnik, M. M. Yoltukhivskyy et al. *Ukr. Biochem. J.* 2014. Vol. 86, № 5. P. 5–25.

76. Яковлев А. В., Ситдикова Г. Ф. Физиологическая роль сероводорода в нервной системе. *Гены & клетки*. 2014. Т. IX, № 3. С. 34–40.

77. Zhi-Zhong X., Yang L., Jin-Song B. HydrogenSulfide and Cellular Redox Homeostasis. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2016. Vol. 2016. P. 6043038.

78. Corsello T., Komaravelli N., Casola A. Role of Hydrogen Sulfide in NRF2- and Sirtuin-Dependent Maintenance of Cellular Redox Balance. *Antioxidants*. 2018. Vol. 7, № 10. P. 129.

79. Колесников С. И., Власов Б. Я., Колесникова Л. И. Сероводород как третья эссенциальная газовая молекула живых тканей. *Вестник РАМН*. 2015. Т. 70, № 2. С. 237–241.

80. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of hydrogen sulfide in a rat model of regional myocardial I/R / A. Sivarajah, M. Collino, M. Yasin et al. *Shock*. 2009. Vol. 31, № 3. P. 267–274.

81. Hydrogen Sulfide, Oxidative Stress and Periodontal Diseases: A Concise Review / M. Greabu, A. Totan, D. Miricescu et al. *Antioxidants*. 2016. Vol. 5, № 1. P. 3.

82. Jackson M. R., Melideo S. L., Jorns M. S. Role of human sulfide: quinone oxidoreductase in H<sub>2</sub>S metabolism. *Methods Enzymol.* 2015. Vol. 554. P. 255–270.

83. Hydrogen Sulfide Oxidation by Myoglobin / T. Bostelaar, V. Vitvitsky, J. Kumutima et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2016. Vol. 138, № 27. P. 8476–8488.

84. A Review of Hydrogen Sulfide Synthesis, Metabolism, and Measurement: Is Modulation of Hydrogen Sulfide a Novel Therapeutic for Cancer? / X. Cao, L. Ding, Z. Z. Xie et al. *Antioxid. Redox. Signal.* 2019. Vol. 31, № 1. P. 1–38.

85. Jackson M. R., Melideo S. L., Jorns M. S. Human sulfide: quinone oxidoreductase catalyzes the first step in hydrogen sulfide metabolism and produces a sulfane sulfur metabolite. *Biochemistry.* 2012. Vol. 51, № 34. P. 6804–15.

86. Наумов А. В. Гомоцистеин. Медико-биологические проблемы: монография. Минск : Профессиональные издания, 2013. 311 с.

87. Мельник А. В., Заїчко Н. В. Статеві відмінності впливу гіпергомоцистеїнемії на метаболізм гідроген сульфїду в серцево-судинній системі. *Вісник наукових досліджень.* 2017. № 1. С. 125–128.

88. Андрушко І. І. Рівень гомоцистеїну, цистеїну та аргініну у практично здорових осіб: вікові та статеві детермінанти. *Український кардіологічний журнал.* 2008. № 5. С. 89–95.

89. Мельник А. В., Заїчко Н. В. Гендерні особливості впливу гіпергомоцистеїнемії на метаболізм сірковмісних амінокислот та гідроген сульфїду в печінці. *Медична та клінічна хімія.* 2017. Т. 19, № 1. С. 95–101.

90. Мельник А. В. Статеві особливості метаболізму сірковмісних амінокислот і гідроген сульфїду та їх зв'язок зі станом серцево-судинної системи (експериментальне дослідження) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук : 03.00.04. Київ, 2017. 44 с.

91. Williams R. H., Maggiore J. A. Hyperhomocysteinemia Pathogenesis, Clinical Significance, Laboratory Assessment, and Treatment. *Laboratory Medicine.* 1999. Vol. 30, № 7. P. 468–475.



92. Гіпергомоцистеїнемія як основа різних патологічних станів (огляд літератури) / О. О. Корчинська, Л. М. Ростока, О. І. Лях та ін. *Проблеми клінічної педіатрії*. 2016. № 3–4 (33–34). С. 26–33.

93. The Molecular and Cellular Effect of Homocysteine Metabolism Imbalance on Human Health / H. Škovierová, E. Vidomanová, S. Mahmood et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2016. Vol. 17, № 10. P. 1733.

94. Schalinske K. L., Smazal A. L. Homocysteine imbalance: A pathological metabolic marker. *Adv. Nutr.* 2012. Vol. 3, № 6. P. 755–762.

95. Метаболические изменения в митохондриях лёгких при экспериментальной гипергомоцистеинемии у крыс / Д. В. Медведев, В. И. Звягина, О. М. Урясьев и др. *Биомедицинская химия*. 2017. Т. 63, вып. 3. С. 248–254.

96. Belcastro V., Striano P. Antiepileptic drugs, hyperhomocysteinemia and Bvitamins supplementation in patients with epilepsy. *Epilepsy Res.* 2012. Vol. 102, № 1–2. P. 1–7.

97. Serum homocysteine levels and their association with clinical characteristics of inflammatory arthritis / J. Shu, X. Sun, J. Li et al. *Clin. Rheumatol.* 2020. Vol. 39, № 11. P. 3295–3302.

98. Гипергомоцистеинемия и кардиоренальный анемический синдром при сахарном диабете / Н. В. Худякова, И. Ю. Пчелин, А. Н. Шишкин и др. *Нефрология*. 2015. Т. 19. № 6. С. 20–27.

99. Гипергомоцистеинемия в генезе оксидативных нарушений у больных с тяжелым течением гемофилии / В. Д. Каргин, В. Е. Солдатенков, С. И. Капустин и др. *Вестник гематологии*. 2017. Т. 13, № 3. С. 37.

100. Reactive oxygen species: key regulators in vascular health and diseases / Q. Chen, Q. Wang, J. Zhu et al. *Br. J. Pharmacol.* 2018. Vol. 175, № 8. P. 1279–1292.

101. Kabil O., Yadav V., Banerjee R. Heme-dependent metabolite switching regulates H<sub>2</sub>S synthesis in response to endoplasmic reticulum (ER) stress. *J. Biol.*

*Chem.* 2016. Vol. 291, № 32. P. 16418–16423.

102. Stachydrine protects eNOS uncoupling and ameliorates endothelial dysfunction induced by homocysteine / X. Xie, Z. Zhang, X. Wang et al. *Mol. Med.* 2018. Vol. 24, № 1. P. 10.

103. Role of Hyperhomocysteinemia and Hyperuricemia in Pathogenesis of Atherosclerosis / J. Zhao, H. Chen, N. Liu et al. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2017. Vol. 26, № 12. P. 2695–2699.

104. Lin J., Kakkar V., Lu X. Impact of MCP-1 in atherosclerosis. *Curr Pharm. Des.* 2014. Vol. 20, № 28. P. 4580–4588.

105. Endothelial glycocalyx, apoptosis and inflammation in an atherosclerotic mouse model / M. Cancel Limary, E. Ebong Eno, S. Mensah et al. *Atherosclerosis.* 2016. Vol. 252. P. 136–146.

106. The immunoregulatory effects of homocysteine and its intermediates on T-lymphocyte function / H. Dawson; G. Collins, R. Pyle et al. *Mech. Ageing Dev.* 2004. Vol. 125, № 2. P. 107–1010.

107. Homocysteine causes vascular endothelial dysfunction by disrupting endoplasmic reticulum redox homeostasis / X. Wu, L. Zhang, Y. Miao et al. *Redox Biol.* 2019. Vol. 20. P. 46–59.

108. Homocysteine Induces Apoptosis of Human Umbilical Vein Endothelial Cells via Mitochondrial Dysfunction and Endoplasmic Reticulum Stress / Z. Zhang, C. Wei, Y. Zhou et al. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2017. Vol. 2017. P. 5736506.

109. The Coagulation Factors Fibrinogen, Thrombin, and Factor XII in Inflammatory Disorders-A Systematic Review / K. Göbel, S. Eichler, H. Wiendl et al. *Front Immunol.* 2018. Vol. 9. P. 1731.

110. William P. F. Homocysteine and thrombosis: guilt by association? *Blood.* 2012. Vol. 119, № 13. P. 2977–2978.

111. Modification of fibrinogen by homocysteine thiolactone increases resistance to fibrinolysis: a potential mechanism of the thrombotic tendency in

hyperhomocysteinemia / D. L. Sauls, E. Lockhart, M. E. Warren et al. *Biochem.* 2006. Vol. 45, № 8. P. 2480–2487.

112. Astaxanthin inhibits homocysteine induced endothelial cell dysfunction via the regulation of the reactive oxygen species dependent VEGF VEGFR2 FAK signaling pathway / X. J. Wang, D. C. Tian, F. W. Wang et al. *Molecular Medicine REPORTS.* 2019. Vol. 19, № 6. P. 4753–4760.

113. Особенности секреции цитокинов и хемокинов моноцитами крови человека при атеросклерозе / Н. Г. Никифоров, В. П. Карагодин, Н. В. Елизова. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2017. Т. 23, № 3. С. 18–22.

114. Кутельмах О. І. Взаємозв'язок вітаміну D, гомоцистеїну та стоматологічних захворювань (огляд літератури). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2019. Т. 12, № 1 (29). С. 104–112.

115. Significant reduction of homocysteine level with multiple B vitamins in atrophic glossitis patients / A. T. Sun, Y. P. Wang, H. P. Lin et al. *Oral Dis.* 2013. Vol. 19, № 5. P. 519–524.

116. Significant reduction of serum homocysteine level and oral symptoms after different vitamin-supplement treatments in patients with burning mouth syndrome / A. T. Sun, H. P. Lin, Y. P. Wang et al. *Journal of Oral Pathology & Medicine.* 2013. Vol. 42, № 6. P. 474–479.

117. Vitamin B-12–fortified toothpaste improves vitamin status in vegans: a 12-wk randomized placebo-controlled study / A. K. Siebert, R. Obeid, S. Weder et al. *Am. J. Clin. Nutr.* 2017. Vol. 105, № 3. P. 618–625.

118. Дементьева Е. А. Эффективность применения фолатов в комплексном лечении больных с плоской формой лейкоплакии слизистой оболочки рта : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : 14.00.21. Омск, 2009. 34 с.

119. Maternal biomarkers of methylation status and non-syndromic orofacial cleft risk: a meta-analysis / R. Blanco, A. Colombo, R. Pardo et al. *Int. J. Oral*

*Maxillofac. Surg.* 2016. Vol. 45, № 11. P. 1323–1332.

120. Endothelial dysfunction and altered coagulation as mediators of thromboembolism in behçet disease / N. Butta, I. Fernández-Bello, J. López-Longo, V. Z. Jiménez-Yuste. *Semin. Thromb. Hemost.* 2015. Vol. 41, № 6. P. 621–628.

121. Association between low 25-hydroxyvitamin D, insulin resistance and arterial stiffness in nondiabetic women with systemic lupus erythematosus / J. Sabio, J. Vargas-Hitos, J. Martinez-Bordonado, et al. *Lupus.* 2015. Vol. 24, № 2. P. 155–163.

122. Association of MTHFR polymorphism and periodontitis' severity in Indonesian males / E. I. Auerkari, R. Purwandhita, K. R. Kim et al. *Journal of Physics: Conference Series.* 2018. Vol. 1025, № 1. Article id. 012063.

123. Закономерная связь между развитием некоторых эпигенетических болезней и нарушением метилирования днк вследствие дефицита ферментов фолатного цикла / Е. Я. Гречанина, В. Н. Лесовой, В. В. Мясоедов, Ю. Б. Гречанина, В. А. Гусар. *Ультразвукова перинатальна діагностика.* 2010. № 29. С. 27–59.

124. Kriebitzsch C., Verlinden L., Eelen G. 1,25-dihydroxyvitamin D3 influences cellular homocysteine levels in murine preosteoblastic MC3T3-E1 cells by direct regulation of cystathionine  $\beta$ -synthase. *Bone Miner. Res.* 2011. Vol. 26, № 12. P. 2991–3000.

125. MTR, MTRR, and MTHFR Gene Polymorphisms and susceptibility to nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate / W. Wang, X. H. Jiao, X. P. Wang et al. *Genet Test Mol. Biomarkers.* 2016. Vol. 20, № 6. P. 297–303.

126. A polymorphism in the MTRR gene is associated with early childhood caries and underweight / L. Antunes, C. Machado, A. Couto et al. *Caries Res.* 2017. Vol. 51, № 2. P. 102–108.

127. Botto L., Yang Q. 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies. *Am. J. Epidemiol.* 2000. Vol. 151, № 9. P. 862–877.

128. Poor Oral Health Is Associated with Coronary Heart Disease and Elevated Systemic Inflammatory and Haemostatic Factors / L. Montebugnoli, D. Servidio, R. A. Miaton et al. *J. Clin. Periodontol.* 2004. Vol. 31, № 1. P. 25–29.

129. Пинелис Ю. И. Патогенетические механизмы хронического генерализованного пародонтита у больных пожилого и старческого возраста : автореф. дис. на соискание ученой степени д-ра мед. наук : 14.03.03. Чита, 2013. 41 с.

130. Periodontitis Is Associated with Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis / E. Muñoz Aguilera, J. Suvan, J. Buti et al. *Cardiovasc. Res.* 2020. Vol. 116, № 1. P. 28–39.

131. Joseph R., Nath S. G., Joseraj M. G. Elevated plasma homocysteine levels in chronic periodontitis: A hospital-based case-control study. *J. Periodontol.* 2011. Vol. 82, № 3. P. 439–444.

132. Segura-Egea J. J., Dominguez B. S., Monroy C. C. Medicina endodoncica: implicaciones sistémicas de la patologia y ter-apéutica endodoncicas. *Endodoncia.* 2010. Vol. 28. P. 233–273.

133. McCarty M. F. Increased homocyst (e) ine associated with smoking, chronic inflammation, and aging may reflect acute-phase induction of pyridoxal phosphatase activity. *Med. Hypotheses.* 2000. Vol. 55, № 4. P. 289–293.

134. Moderate hyperhomocysteinaemia and immune activation in patients with rheumatoid arthritis / K. Schroecksadel, B. Frick, S. Kaser et al. *Clin. Chim. Acta.* 2003. Vol. 338, № 1–2. P. 157–164.

135. Mechanisms of homocysteine-induced oxidative stress / N. Tyagi, K. C. Sedoris, M. Steed et al. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005. Vol. 289, № 6. P. H2649–656.

136. Wijaksana KE, Prahasanti C, Bargowo L, Sukarsono RM, Krismariono A. OPG and RANKL Expression in Osteoblast Culture after Application of Osphronemus Gourami Fish Scale Collagen Peptide. *J. Int. Dent. Medical Res.* 2021. Vol. 14, № 2. P. 618-622.

137. Lubos E., Loscalzo J., Handy D. E. Homocysteine and glutathione peroxidase-1. *Antioxid. Redox Signal.* 2007. Vol. 9, № 11. P. 1923–1940.
138. Deficiency of superoxide dismutase promotes cerebral vascular hypertrophy and vascular dysfunction in hyperhomocysteinemia / S. Dayal, G. L. Baumbach, E. Arning et al. *PLoS One.* 2017. Vol. 12, № 4. P. e0175732.
139. Homocystamides promote free-radical and oxidative damage to proteins / M. Sibrian-Vazquez, J. O. Escobedo, S. Lim et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. Vol. 107, № 2. P. 551–554.
140. Yuyun M. F., Ng L. L., Ng G. A. Endothelial dysfunction, endothelial nitric oxide bioavailability, tetrahydrobiopterin, and 5-methyltetrahydrofolate in cardiovascular disease. Where are we with therapy? *Microvasc. Res.* 2018. Vol. 119. P. 7–12.
141. Perła-Kaján J., Twardowski T., Jakubowski H. Mechanisms of homocysteine toxicity in humans. *Amino Acids.* 2007. Vol. 32, № 4. P. 561–572.
142. Hypertonic Saline Suppresses NADPH Oxidase-Dependent Neutrophil Extracellular Trap Formation and Promotes Apoptosis / A. Nadesalingam, J. H. K. Chen, A. Farahvash, M. A. Khan. *Front. Immunol.* 2018. Vol. 9. P. 359.
143. Ratcliff P. A., Johnson P. W. The relationship between oral malodor, gingivitis, and periodontitis. A review. *J. Periodontol.* 1999. Vol. 70, № 5. P. 485–489.
144. Симонян Т. В. Влияние сульфатредуцирующих бактерий на возникновение пародонтита. *Клиническая медицина. Серия: Естественные и технические науки.* 2021. № 2. С. 173–176.
145. Sulfate-Reducing Bacteria of the Oral Cavity and Their Relation with Periodontitis – Recent Advances / I. Kushkevych, M. Coufalová, M. Vitezová, S. K.-M. R. Rittmann. *J. Clin. Med.* 2020. Vol. 9, № 8. P. 2347.
146. Marsh P. D., Devine D. A. How Is the Development of Dental Bio-films Influenced by the Host? Host Influence on Biofilm Development. *J. Clin. Periodontol.* 2011. Vol. 38, Suppl. 11. P. 28–35.

147. Langendijk-Genevaux P., Hanssen J. T. J., van der Hoeven J. S. Sulfate-reducing bacteria in association with human periodontitis. *Journal Of Clinical Periodontology*. Vol. 27, № 12. P. 943–50.

148. Physiologic levels of endogenous hydrogen sulfide maintain the proliferation and differentiation capacity of periodontal ligament stem cells / Y. Su, D. Liu, Y. Liu et al. *J. Periodontol.* 2015. Vol. 86, № 11. P. 1276–1286.

149. Production of endogenous hydrogen sulfide in human gingival tissue / J. Chun-Mei, C. Wu, M. Guo-Liang et al. *Archives of Oral Biology*. 2017. Vol. 74. P. 108–113.

150. Джумабоев Д. Б., Каримов С. М. Диагностические аспекты галитометрического исследования стоматологических пациентов. *Вестник Авиценны*. 2013. № 4. С. 130–135.

151. Nakano M., Shin K., Wakabayashi H. Inactivating effects of the lactoperoxidase system on bacterial lyases involved in oral malodor production. *J. Med. Microbiol.* 2015. Vol. 64, № 10. P. 1244–1252.

152. Lechner J., von Baehr V. Stimulation of proinflammatory cytokines by volatile sulfur compounds in endodontically treated teeth. *Int. J. Gen. Med.* 2015. Vol. 9. P. 109–118.

153. Мазур І. П. Вибір антибактеріальних препаратів у стоматології з урахуванням мікробіому ротової порожнини. *Oral and general health*. 2021. Т. 2, № 2. С. 29–35.

154. Liao C., Hua Y. Effect of hydrogen sulphide on the expression of osteoprotegerin and receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand in human periodontal ligament cells induced by tension-force stimulation. *Arch. Oral Biol.* 2013. Vol. 58, № 12. P. 1784–1790.

155. Oral malodorous compound causes oxidative stress and p53-mediated programmed cell death in keratinocyte stem cells / B. Calenic, K. Yaegaki, A. Kozhuharova, T. Imai. *J. Periodontol.* 2010. Vol. 81, № 9. P. 1317–1323.

156. Calenic B., Amann A. Detection of volatile malodorous compounds in

breath: Current analytical techniques and implications in human disease. *Bioanalysis*. 2014. Vol. 6, № 3. P. 357–376.

157. H<sub>2</sub>S mediates increased interleukin (IL)-1 $\beta$  and IL-18 production in leukocytes from patients with periodontitis / A. Basic, G. Serino, Å. Leonhardt, G. Dahlén. *Journal of Oral Microbiology*. 2019. Vol. 11, № 1. P. 1617015.

158. Pianotti R., Lachette S., Dills S. Desulfuration of cysteine and methionine by fusobacterium nucleatum. *J. Dent. Res.* 1986. Vol. 65, № 6. P. 913–917.

159. Hydrogen sulfide production from cysteine and homocysteine by periodontal and oral bacteria / A. Yoshida, M. Yoshimura, N. Ohara et al. *J. Periodontol.* 2009. Vol. 80, № 11. P. 1845–1851.

160. Carlsson J., Larsen J. T., Edlund M. B. Peptostreptococcus micros has a uniquely high capacity to form hydrogen sulfide from glutathione. *Oral Microbiol. Immunol.* 1993. Vol. 8, № 1. P. 42–45.

161. Cystalysin, a 46-kda L-cysteine desulphydrase from Treponema denticola: Biochemical and biophysical characterization / L. Chu, J. L. Ebersole, G. P. Kurzban, S. C. Holt. *Clin. Infect. Dis.* 1999. Vol. 28, № 3. P. 442–450.

162. Role of glutathione metabolism of Treponema denticola in bacterial growth and virulence expression / L. Chu, Z. Dong, X. Xu et al. *Infect. Immun.* 2002. Vol. 70, № 3. P. 1113–1120.

163. Chi X. P., Ouyang X. Y., Wang Y. X. Hydrogen sulfide synergistically upregulates Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-induced expression of IL6 and IL-8 via NF- $\kappa$ B signalling in periodontal fibroblasts. *Arch. Oral Biol.* 2014. Vol. 59, № 9. P. 954–961.

164. The effects of hydrogen sulphide on alveolar bone loss in periodontitis / H. Toker, H. Balci Yuce, F. Goze et al. *Minerva Stomatol.* 2014. Vol. 63, № 4. P. 103–110.

165. Oral malodorous compound causes apoptosis and genomic DNA damage in human gingival fibroblasts / K. Yaegaki, W. Qian, T. Murata et al. *J. Periodontal Res.* 2008. Vol. 43, № 4. P. 391–399.



166. Zhang J. H., Dong Z., Chu L. Hydrogen sulfide induces apoptosis in human periodontium cells. *J. Periodontal Res.* 2010. Vol. 45, № 1. C. 71–78.

167. Oral malodorous compound causes caspase-8 and -9 mediated programmed cell death in osteoblasts / I. Aoyama, B. Calenic, T. Imai et al. *J. Periodontal Res.* 2012. Vol. 47, № 3. C. 365–373.

168. Ordering of caspases in cells undergoing apoptosis by the intrinsic pathway / S. Inoue, G. Browne, G. Melino, G. M. Cohen. *Cell Death Differ.* 2009. Vol. 16, № 7. P. 1053–1061.

169. Basic A., Dahlen G. Hydrogen sulfide production from subgingival plaque samples. *Anaerobe.* 2015. Vol. 35, Pt. A. P. 21–27.

170. Anti-inflammatory effect of ATB-352, a H<sub>2</sub>S-releasing ketoprofen derivative, on lipopolysaccharide-induced periodontitis in rats / E. Gugliandolo, R. Fusco, R. D'Amico et al. *Pharmacological Research.* 2018. Vol. 132. P. 220–231.

171. Khudan R., Svanishvili N., Dumbadze Z., Krynytska I., Marushchak M., Korda M. Hydrogen sulfide metabolism and its role in the development of periodontal diseases. *Romanian journal of diabetes, nutrition and metabolism.* 2021. Vol. 28, № 3. P. 311–315.

172. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. *European Treaty Series.* Strasbourg, 1986. № 123. 52 p. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b>

173. Кожемякін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. К. : Авіцена, 2002. 155 с.

174. Моисеева Е. Г. Метаболический гомеостаз и иммунная реактивность организма в динамике воспаления в тканях пародонта (экспериментальное исследование) : автореф. дис. на соискание ученой степени д-ра мед. наук : 14.00.16. М., 2008. 45 с.

175. Stangl G. I. Homocysteine thiolactone-induced hyperhomocysteinemia does not alter concentrations of cholesterol and SREBP-2 target gene mRNAs in rats. *Exp. Biol. Med.* 2007. Vol. 232, № 1. P. 81–87.

176. Авдеев О. В. Ступінь активності фосфатаз при експериментальному пародонтиті та за його корекції. *Клінічна стоматологія*. 2013. № 3–4. С. 13–17.

177. Nishikimi N., Rao N. A., Iagi K. The occurrence of superoxide anion in the reduced phenazine methosulfate and zinc molecular oxygen. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1972. Vol. 46, № 2. P. 849–854.

178. Кисеньзалежні функції фагоцитів у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень / Є. М. Нейко, П. Р. Герич, М. М. Островський, Л. М. Томащук. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2010. № 1. С. 100–104.

179. Волощук О. Н., Марченко М. М. Энзиматическая активность компонентов системы энергообеспечения митохондрий лейкоцитов крови в динамике роста карциномы Герена. *Сибирский онкологический журнал*. 2013. № 6 (60). С. 36–39.

180. Визначення вмісту гідроген сульфід у сироватці крові / Н. В. Заїчко, Н. О. Пентюк, Л. О. Пентюк та ін. *Вісник наукових досліджень*. 2009. № 1. С. 29–32

181. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / В. В. Влізла, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін. ; за ред. В. В. Влізла. Львів : СПОЛОМ, 2012. 764 с.

182. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. G. Rosenbrough, A. L. Farr, R. C. Randall. *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193, № 1. P. 265–275.

183. Мецишен І. Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми крові. *Буковинський медичний вісник*. 1998. Т. 2, № 1. С. 156–158.

184. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале. *Лаб. дело*. 1985. № 11. С. 678–681.

185. Дудин В. И. Колориметрическое определение перекиси водорода при измерении активности каталазы в крови. *Проблемы биологии продуктивных*

*животных*. 2008. № 2. С. 96–99.

186. Биохимические методы исследования в клинике / под ред. проф. А. А. Покровского. М. : Медицина, 1969. С. 450–452.

187. Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма : Методические рекомендации. Санкт-Петербург, 2000. 104 с.

188. Роль среднемолекулярных пептидов крови в развитии кардиодепрессии при термических ожогах / Р. И. Лифшиц, Б. М. Вальдман, И. А. Волчегорский, А. С. Лужевский. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1986. Т. 101, № 3. С. 280–282.

189. Креев С. С., Багмут Т. А., Крочкин М. Ю. Определение тяжести эндотоксикоза при критических состояниях у детей. *Педиатрия*. 1990. № 6. С. 107–108.

190. Исследование поглотительной и метаболической активности нейтрофилов периферической крови у детей раннего возраста / Г. И. Гордиенко, Т. М. Бородина, Т. А. Дудина, Г. А. Самсыгина. *Педиатрия*. 2003. № 5. С. 1–11.

191. Громов С. А., Липатова Л. В. Диагностика клинико-нейроиммунологических нарушений у больных эпилепсией с синдромом энцефалопатии, их иммунокоррекция и лечение: методические рекомендации. Санкт-Петербург, 2010. 27 с.

192. Flow cytometric studies of oxidative product formation by neutrophils: a graded response to membrane stimulation / D. A. Bass, J. W. Parce, L. R. Dechatelet et al. *J. Immunol.* 1983. Vol. 130, № 4. P. 1910–1917.

193. Механизмы апоптоза лимфоцитов при клещевом энцефалите / О. Е. Чечина, Н. В. Рязанцева, Е. В. Сазонова и др. *Бюллетень сибирской медицины*. 2011. № 6. С. 61–66.

194. Apoptosis of neutrophils / N. A. Maianski, A. N. Maianski, T. W. Kuijpers, D. Roos. *Acta Haematol.* 2004. Vol. 111, № 1–2. P. 56–66.

195. Ещенко Н. Д., Вольський Г. Г. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). Л. : Из-во Ленингр. ун-та, 1982. С. 207–212.

196. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий. *Современные методы в биохимии* ; под ред. В. Н. Ореховича. М. : Медицина, 1977. С. 47–49.

197. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза : Метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Деньга и др. К. : ГФЦ, 2005. 30 с.

198. Ферментативний метод оцінки стану кісткової тканини / А. П. Левицький, О. А. Макаренко, І. В. Ходаков та ін. *Одеський медичний журнал*. 2006. № 3. С. 17–21.

199. Определение коллагенолитической активности плазмы крови / П. Н. Шараев, В. Н. Пишков, Н. Г. Зворыгина и др. *Лаб. дело*. 1987. № 1. С. 60–62.

200. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях / П. Н. Шараев, В. Н. Пишков, Н. И. Соловьева и др. *Лаб. дело*. 1987. № 5. С. 330–332.

201. Метод определения фукозы, не связанной с белками / П. Н. Шараев, Н. С. Стрелков, Р. Р. Кильдиярова и др. *Клин. лаб. диагностика*. 1997. № 4. С. 17–18.

202. Тетянец С. С. Метод определения свободного оксипролина в сыворотке крови. *Лаб. дело*. 1985. № 1. С. 61–62.

203. Колб В. Г., Камышников В. С. Клиническая биохимия. Пособие для врачей-лаборантов. Минск : Беларусь, 1976. 311 с.

204. Зміни концентрації С-реактивного білка у щурів з пародонтитом на фоні гіпер- і гіпотиреозу / В. В. Щерба, І. Я. Криницька, А. В. Мізь, М. М. Корда. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2017. № 4 (77). С. 22–28.

205. Ешмолов С. Н., Ситников И. Г., Мельникова И. М. Цитокины ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ , ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-8 и их роль в иммунном ответе при инфекционном поражении ЦНС у детей. *Детские инфекции*. 2018. Т. 17, № 1. С. 17–22.

206. Сабирова А. И. Цитокиновый статус у больных генерализованным пародонтитом и метаболическим синдромом. *Вестник КРСУ*. 2016. Т. 16, № 7 С. 102–105.

207. Худан Р.І., Кирилів М.В., Бекус І.Р., Корда М.М. Вплив хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії на цитокиновий профіль щурів із ліпополісахарид-індукованим пародонтитом. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. Вип. 3 (161). С. 337–342.

208. Худан Р. І. Зміни вмісту С-реактивного протеїну за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту на тлі хронічної гіпергомоцистеїнемії. *УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень участю* : матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії, 8 жовтня 2021 р. Полтава, 2021. С. 178–180.

209. Роль редокс-статуса и окислительной модификации белков в реализации апоптоза лимфоцитов крови человека в норме и при экспериментальном окислительном стрессе / О. Л. Носарева, Е. А. Степовая, Е. В. Шахристова и др. *Росс. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*. 2019. Т. 105, № 3. С. 327–338.

210. Унгурян Т. М., Заморський І. І. Зміна вмісту церулоплазмину в плазмі крові за умов міоглобінуричної форми гострого пошкодження нирок. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2018. Т. 3, № 6 (15). С. 67–72.

211. Худан Р. І., Корда М. М. Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Клінічна стоматологія*. 2021. № 3 (36). С. 48–58.

212. Худан Р. І., Гецько Н. В. Особливості ендогенної інтоксикації за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Пріоритетні напрями вирішення актуальних проблем медицини* : матеріали міжнародної наук.-практ. конф., 10–11 вересня 2021 р. Дніпро, 2021. С. 18–21.

213. Василевський В. С., Дичко В. В. Реактивна відповідь нейтрофільних гранулоцитів периферійної крові дітей молодшого шкільного віку 7–10 років з патологією зору. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2017. № 1 (3). С. 158–162.

214. Андрюков Б. Г., Богданова В. Д., Ляпун И. Н. Фенотипическая гетерогенность нейтрофилов: новые антимикробные характеристики и диагностические технологии. *Гематология и трансфузиология*. 2019. Т. 64, № 2. С. 211–221.

215. Оценка функциональной активности нейтрофилов цельной крови методом двухстадийной стимуляции: новый подход к хемилюминесцентному анализу / И. В. Образцов, М. А. Годков, А. М. Полимова и др. *Рос. иммунол. журн.* 2015. Т. 9 (18), № 4. С. 418–425.

216. The Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in the Biological Activities of Metallic Nanoparticles / A. A. Dayem, M. K. Hossain, S. B. Lee et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2017. Vol. 18, № 120. P. 1–21.

217. Соодаева С. К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания. *Пульмонология*. 2012. № 1. С. 5–10.

218. The mechanisms of apoptosis initiation in rats with chronic enterocolitis combined with streptozotocin-induced diabetes / M. Marushchak, N. Lisnyanska, I. Krynytska, I. Chornomudz. *Georgian Medical News*. 2017. Vol. 9, № 270. P. 121–126.

219. Жиденко А. А., Бибчук У. В., Барбухо Е. В. Влияние глифосата на энергетический обмен в органах карпа. *Український біохімічний журнал*. 2013. Т. 85, № 3. С. 22–29.

220. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on phagocytic and metabolic activity of peripheral blood neutrophils in case of lipopolysaccharide-induced periodontitis / R. Khudan, I. Bandas, A. Mykolenko, N. Svanishvili, Z. Dumbadze, I. Krynytska. *Georgian Medical News*. 2021. Vol. 321, № 12. P. 119–125.

221. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on characteristics of peripheral neutrophils' programmed death in lipopolysaccharide-induced periodontitis / R. Khudan, I. Krynytska, M. Marushchak, M. Korda. *Journal of Stomatology*. 2022. Vol. 75, № 3. P. 155–162.

222. Худан Р. І. Особливості функціонування фагоцитуючих клітин крові за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту у поєднанні із хронічною гіпергомоцистеїнемією. *Oral and General Health*. 2021. Т. 2, № 3. С. 63.

223. Khudan R., Krynytska I. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on peripheral blood neutrophils in case of lipopolysaccharide-induced periodontitis. *3<sup>rd</sup> International Conference on Medical and Health Sciences* : abstracts, December 24-25, 2021. Bingol, 2021. P. 135.

224. Заболотнева С. В. Морфологическое и функциональное состояние тканей пародонта при хроническом и агрессивном течении пародонтита : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.14. М., 2018. 129 с.

225. Микитенко А. О. Патогенетичне обґрунтування ефективності мультипробіотикотерапії у хворих на хронічний генералізований пародонтит (експериментально-клінічне дослідження) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : 14.03.04. Суми, 2015. 20 с.

226. Маркери метаболізму кісткової тканини / О. М. Ігнат'єв, Т. О. Ермоленко, М. І. Турчин та ін. *Вісник морської медицини*. 2020. № 2. С. 127–148.

227. Показники кісткового метаболізму у щурів з пародонтитом на фоні гіпер- та гіпотиреозу / В. В. Щерба, І. Я. Криницька, В. Р. Мачоган,

М. М. Корда. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2017. № 4. С. 31–38.

228. Деньга А. Э., Вербицкая Т. Г., Рожко П. Д. Оценка нарушений в генетических маркерах, связанных с костным метаболизмом у пациентов с зубочелюстными аномалиями на фоне метаболического синдрома. *Актуальные проблемы транспортной медицины*. 2020. № 1 (59). С. 59–64.

229. Худан Р. І., Корда М. М. Кореляційні взаємодії між показниками кісткового метаболізму та реалізацією програмованої загибелі нейтрофілів крові за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Клінічна стоматологія*. 2021. № 4 (37). С. 52–59.

230. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on connective tissue disorders in case of lipopolysaccharide-induced periodontitis / R. Khudan, M. Kyryliv, I. Bekus, A. Demyd, M. Koval, V. Luchynskyi. *Journal of International Dental and Medical Research*. 2022. Vol. 15, № 1. P. 35–41.

231. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on the features of bone metabolism in case of lipopolysaccharide-induced periodontitis / R. Khudan, I. Krynytska, M. Marushchak, M. Korda. *Dental and Medical Problems*. 2022. Vol. 59, № 2. P. 255–261.

232. Худан Р. І. Зміни вмісту глікозаміногліканів за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : матеріали підсумкової LXIV наук.-практ. конф., 11 червня 2021 р. Тернопіль, 2021. С. 200–202.

233. Худан Р. І., Гецько Н. В. Особливості кальцій-фосфорного обміну за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Topical issues of modern science, society and education* : abstracts of the 1 st International scientific and practical conference, August 8-10, 2021. Kharkiv, 2021. С. 220–222.



234. Цитокиновый профиль плазмы крови и десневой жидкости у жителей Дагестана при хроническом пародонтите / В. Н. Царев, С. Д. Арутюнов, Е. В. Ипполитов и др. *Рос. стоматол. журн.* 2012. № 6. С. 18–22.

235. Рівень прозапальних цитокінів у сироватці крові щурів за умов гострого пародонтиту на тлі цукрового діабету 2 типу / К. М. Дуда, І. М. Кліщ, М. І. Марущак, Б. В. Вонс. *Вісник проблем біології і медицини.* 2013. Вип. 4 (1). С. 318–321.

236. Різник С. С., Різник Ю. Б. Цитокиновий статус хворих на генералізований пародонтит на тлі цукрового діабету II типу. *Сучасна стоматологія.* 2020. № 4. С. 22–25.

237. Щерба В. В., Криницька І. Я., Корда М. М. Зміни цитокинового профілю в щурів з пародонтитом на тлі гіпер- та гіпотиреозу. *Медична та клінічна хімія.* 2019. Т. 21, № 2 С. 36–43.

238. Duvina M., Barbato L. Biochemical markers as predictors of bone remodelling in dental disorders: a narrative description of literature. *Clin. Cases Miner. Bone Metab.* 2012. Vol. 9, № 2. P. 100–106.

239. Irsogladine maleate inhibits Porphyromonas gingivalis-mediated expression of toll-like receptor 2 and interleukin-8 in human gingival epithelial cells / I. J. Savitri, K. Ouhara, T. Fujita et al. *J. Periodontal Res.* 2015. Vol. 50, № 4. P. 486–493.

240. Zhang Y., Li X. Lipopolysaccharide-regulated production of bone sialoprotein and interleukin-8 in human periodontal ligament fibroblasts: the role of toll-like receptors 2 and 4 and the MAPK pathway. *J. Periodontal Res.* 2015. Vol. 50, № 4. P. 141–151.

241. Effect of nonsurgical periodontal therapy on thyroid stimulating hormone in hypothyroid patients with periodontal diseases / R. R. Bhankhar, S. Hungund, P. Kambalyal et al. *Indian J. Dent. Res.* 2017. Vol. 28, № 1. P. 16–21.

242. Цитокиновый профиль десневой жидкости у пациентов после внутрикостной дентальной имплантации и при развитии периимплантита / В. Н. Царев, Е. Н. Николаева, Е. В. Ипполитов, Т. В. Царева. *Стоматология*. 2013. № 92. С. 52–55.

243. Роль провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при бактериальной пневмонии. Обзор литературы / Е. П. Зинина, С. В. Царенко, Д. Ю. Логунов и др. *Вестник интенсивной терапии имени А. И. Салтанова*. 2021. № 1. С. 77–89.

244. Al-Ghurabi B. H., Shaker Z. F., Al-Hassan A. A. Clinical relevance of IL-1B/IL-10 and TNF-A/IL-10 ratio in chronic periodontitis patients. *Int. J. Recent. Sci. Res.* 2013. Vol. 4, № 3. P. 275–277.

245. Effects of initial periodontal therapy on interleukin-1 $\beta$  level in gingival crevicular fluid and clinical periodontal parameters / H. Oh, J. Hirano, H. Takai, Y. Ogata. *Int. J. Oral Sci.* 2015. Vol. 57, № 2. P. 67–71.

246. Вівчаренко Т. І., Рожко М. М. Зміни рівня прозапальних цитокінів у пацієнтів з генералізованим пародонтитом та гіпертонічною хворобою залежно від способу лікування. *Галицький лікарський вісник*. 2017. Т. 24, № 4. С. 4–6.

247. Effects of treatment on soluble tumour necrosis factor receptor type 1 and 2 in chronic periodontitis / I. Ikezawa-Suzuki, Y. Shimada, H. Tai et al. *J. Clin. Periodontol.* 2008. Vol. 35, № 11. P. 961–968.

248. Elkhoul A. The efficacy of host response modulation therapy (omega-3 plus low-dose aspirin) as an adjunctive treatment of chronic periodontitis (Clinical and biochemical study). *J. Periodontal Res.* 2011. Vol. 46, № 2. P. 261–268.

249. High interleukin-4 expression and interleukin-4 gene polymorphisms are associated with susceptibility to human paracoccidioidomycosis / M. S. Mendonza, T. S. Perazolli, M. L. Silva-Vergara et al. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2015. Vol. 110, № 6. P. 781–785.

250. Мельничук Г. М. Рівень цитокінів у сироватці крові у хворих на генералізований пародонтит. *Український медичний часопис*. 2005. № 3 (47). С. 104–106.

251. Over-expression of forkhead box P3 and its association with receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand, interleukin (IL)-17, IL-10 and transforming growth factor-beta during the progression of chronic periodontitis / N. Dutzan, J. Gamonal, A. Silva et al. *J. Clin. Periodontol.* 2009. Vol. 36, № 5. P. 396–403.

252. Pan W., Wang Q., Chen Q. The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *Int. J. Oral Sci.* 2019. Vol. 11, № 3. P. 276–288.

253. Does thyroid dysfunction influence inflammatory mediators in experimental periodontitis? / V. Shcherba, I. Krynytska, M. Marushchak, M. Korda. *Endocrine regulations*. 2021. Vol. 55, № 3. P. 101–111.

254. Шмидт Д. В. Цитокины десневой жидкости; их роль в патогенезе и контроле лечения хронического пародонтита : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : 14.00.36. Пермь, 2009. 21 с.

255. Гармаш О. В. Біохімічні показники ротової рідини в якості маркерів різних варіантів перебігу хвороб тканин пародонта в осіб, які народилися із макросомією. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020. № 2 (156). С. 340–349.

256. Interleukin-10 Inhibits Bone Resorption: A Potential Therapeutic Strategy in Periodontitis and Other Bone Loss Diseases / Q. Zhang, B. Chen, F. Yan et al. *Biomed. Res. Int.* 2014. Vol. 2014. P. 284836.

257. Homocysteine enhances cytokine production in cultured synoviocytes from rheumatoid arthritis patients / P. E. Lazzerini, E. Selvi, S. Lorenzini et al. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2006. Vol. 24, № 4. P. 387–93.

258. Мысливец М. Г., Наумов А. В., Парамонова Н. С. Роль гомоцистеина в развитии ювенильного ревматоидного артрита. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2017. № 2. С. 144–148.

259. Стрільчук Л. М. С-реактивний протеїн та його роль у патогенезі уражень серця (Огляд літератури та власні дослідження). *Семейная медицина*. 2019. № 2 (82). С. 109–112.

260. Markanday A. Acute Phase Reactants in Infections: Evidence-Based Review and a Guide for Clinicians. *Open Forum Infect. Dis.* 2015. Vol. 2, № 3. P. ofv098.

261. Lu Q., Jin L. Human gingiva is another site of C-reactive protein formation. *J. Clin. Periodontol.* 2010. Vol. 37, № 9. P. 789–96.

262. Взаимосвязь уровня гомоцистеина и серосодержащих производных аминокислот с маркерами активности при ювенильном ревматоидном артрите у детей / М. Г. Мысливец, Н. С. Парамонова, А. В. Наумов, Е. М. Дорошенко. *Охрана материнства и детства*. 2018. № 1 (31). С. 12–16.

263. Щерба В. В., Корда М. М. Функціональний стан системи антиоксидного захисту у щурів з пародонтитом на фоні гіпер- та гіпотиреозу. *Буковинський медичний вісник*. 2018. Т. 22, № 2 (86). С. 129–137.

264. Савельева Н. Н. Состояние системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у больных хроническим генерализованным пародонтитом I-II степени тяжести, сочетающегося с паразитозами. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015. Vol. 5, № 12. P. 465–476.

265. The indices of endogenous intoxication in rats with carrageenan solution consumption / I. Krynytska, M. Marushchak, O. Svan et al. *Georgian Medical News*. 2018. № 279. P. 196–200.

266. Семенюк Г. Д., Мельничук Г. М., Ерстенюк Г. М. Стан інтенсивності окиснювальної модифікації білків та активності антиоксидантних ферментів у ротовій рідині хворих на генералізований пародонтит. *Архів клінічної медицини*. 2013. № 2 (19). С. 68–71.

267. Состояние перекисного окисления липидов при заболеваниях пародонта у детей с психоневрологическими нарушениями / О. В. Гуленко,

Е. А. Фарапонова, В. В. Волобуев, Н. И. Быкова. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2014. № 2. Р. 59–64.

268. Чудинова Т. Н. Обоснование и тактика применения средств метаболической коррекции в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта у больных с полиморбидной патологией внутренних органов : автореф. на соискание ученой степени канд. мед. наук : 14.01.14. Санкт-Петербург, 2015. 17 с.

269. Баліцька О. Ю., Бондаренко Ю. І., Габор Г. Г. Активність процесів пероксидації ліпідів у хворих на хронічний генералізований пародонтит і цукровий діабет 2 типу. *Вісник наукових досліджень*. 2018. № 3. С. 98–101.

270. Стан пероксидного окиснення ліпідів у щурів з пародонтитом на фоні гіпер- та гіпотиреозу / В. В. Щерба, І. Я. Криницька, С. І. Черкашин та ін. *Світ медицини та біології*. 2018. № 2 (64). С. 185–189.

271. Черемісіна В. Ф., Жемела О. Д., Гученко Г. П. Стан вільнорадикальних процесів та системи антиоксидантного захисту сполучної тканини пародонта у кролів при гідрокортизоновому пародонтиті. *Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2018. Т. 18, Вип. 3 (63). С. 190–193.

272. Гнідь Р. М. Результати дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту ротової рідини у хворих на пародонтит, які проживають на території, забрудненій сіркою. *Вісник проблем біології і медицини*. 2016. Вип. 1, т. 2 (127). С. 224–227.

273. Хронічний генералізований пародонтит як наслідок порушення біоплівки біотопу порожнини рота / К. С. Непорада, А. О. Микитенко, Д. С. Янковський та ін. *Современная стоматология*. 2013. № 3. С. 15–18.

274. Vincent R. R., Appukuttan D., Prakash P. S. G. Oxidative stress: role in pathogenesis of periodontal disease. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2017. Vol. 8, № 3. P. (B)1033–1041.

275. Different profile of peripheral antioxidant enzymes and lipid peroxidation in active and non-active inflammatory bowel disease patients / D. Achitei, A. Ciobica, G. Balan et al. *Dig. Dis. Sci.* 2013. Vol. 58, № 5. P. 1244–1249.

276. Structural evidence for a copper-bound carbonate intermediate in the peroxidase and dismutase activities of superoxide dismutase / R. W. Strange, M. A. Hough, S. Antonyuk, S. S. Hasnain. *PLoS One*. 2012. Vol. 7, № 9. P. 411–448.

277. Wu Y., Yang L., Zhong L. Decreased serum levels of thioredoxin in patients with coronary artery disease plus hyperhomocysteinemia is strongly associated with the disease severity. *Atherosclerosis*. 2010. Vol. 212, № 1. P. 351–355.

278. Влияние карнитина хлорида на митохондрии сердца крыс при моделировании гипергомоцистеинемии / В. И. Звягина, Э. С. Бельских, О. М. Урясьев и др. *Медицинский Вестник Северного Кавказа*. 2018. Т. 13, № 1.1. С. 78–81.

279. Пилипчук Т. П., Криницька І. Я. Дослідження показників ендогенної інтоксикації у щурів в динаміці розвитку синдрому тривалого стиснення. *Вісник проблем біології і медицини*. 2019. Вип. 1, т. 2 (149). С. 171–175.

280. Обухова Л. М., Андриянова Н. А. Определение веществ низкой и средней молекулярной массы в сыворотке крови как дополнительный диагностический критерий при смертельных отравлениях наркотическими веществами. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2014. № 6. С. 37–39.

281. Сидельникова В. И., Черницкий А. Е., Рецкий М. И. Эндогенная интоксикация и воспаление: последовательность реакций и информативность маркеров. *Сельскохозяйственная биология*. 2015. Т. 50, № 2. С. 152–161.

282. Щерба В. В., Корда М. М. Зміни показників ендогенної інтоксикації у щурів з пародонтитом на тлі гіпер- та гіпотиреозу. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2019. № 2 (83). С. 4–11.

283. Авдеев О. В., Бойків А. Б. Стан ендогенної інтоксикації у тварин із запаленням у пародонті за зміненої реактивності. *Медична хімія*. 2011. Т. 13, № 1. С. 126–129.

284. Григ Н. І. Ендогенна інтоксикація як фактор ризику в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту. *Современная стоматология*. 2015. № 1. С. 28–31.

285. Ніколаєнко В. Б. Мукорегулятор, антиоксидант, пневмопротектор – сучасне уявлення про місце ацетилцистеїну в терапії захворювань респіраторної системи. *Український медичний часопис*. 2019. № 1(1). С. 69–74.

286. Оксидативный стресс и эндогенная интоксикация у пациенток с бесплодием и перитонеальной формой эндометриоза с учетом полиморфизма гена NAT2 / Е. Д. Дубинская, Т. А. Федорова, Н. В. Лаптева, О. М. Векилян. *Проблемы репродукции*. 2014. № 4. С. 39–44.

287. Liu Z, Liu Y, Song Y et al. Systemic oxidative stress biomarkers in chronic periodontitis: a meta-analysis. *Dis. Markers*. 2014. Vol. 2014. Article ID 931083.

288. Chapple I. L., Matthews J. B. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000*. 2007. Vol. 43. P. 160–232.

289. Interactions Between Neutrophils and Periodontal Pathogens in Late-Onset Periodontitis / Q. Jiang, Y. Zhao, Y. Shui et al. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2021. Vol. 11. P. 627328.

290. Estimation of phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes in chronic and aggressive periodontitis patients with nitroblue tetrazolium test / J. R. Gooty, A. Shashirekha, V. R. Guntakala, R. Palaparathi. *J. Indian Soc. Periodontol.* 2019. Vol. 23, № 4. P. 316–321.

291. The influence of thyroid hormones on mitochondrial mechanisms of blood neutrophils' apoptosis in case of experimental periodontitis / V. Shcherba,

O. Vydoinyk, L. Posolenyk, M. Korda. *Arch. Balk. Med. Union*. 2019. Vol. 54, № 1. P. 64–71.

292. Uribe-Querol E., Rosales C. Control of Phagocytosis by Microbial Pathogens. *Front. Immunol.* 2017. Vol. 8. P. 1368.

293. Janus-Faced Neutrophil Extracellular Traps in Periodontitis / L. Vitkov, D. Hartl, B. Minnich, M. Hannig. *Front. Immunol.* 2017. Vol. 8. P. 1404.

294. Чим корисна для організму загибель окремих клітин? / Т. І. Думич, С. Я. Парижак, С. М. Пешкова та ін. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2018. № 2 (82). С. 77–85.

295. The Neutrophil's Choice: Phagocytose vs Make Neutrophil Extracellular Traps / A. A. Manfredi, G. A. Ramirez, P. Rovere-Querini, N. Maugeri. *Front. Immunol.* 2018. Vol. 9. P. 288.

296. Мокренко Е. В., Шабанов П. Д. Лечение воспалительно-дегенеративных поражений мягких тканей пародонта с использованием иммуномодуляторов. *Рос. мед.-биол. вест. им. акад. И. П. Павлова*. 2015. № 4. С. 21–29.

297. Состояние местного иммунитета ротовой полости в условиях комплексной терапии хронического генерализованного пародонтита / Т. М. Ахкамова, А. И. Булгакова, Ю. А. Медведев, И. В. Валеев. *Башкирский медицинский вестник*. 2007. № 2. С. 83–86.

298. Иммуно-патогенетические особенности развития хронического генерализованного пародонтита / Л. Ф. Азнабаева, М. И. Гумерова, Ф. А. Кильсенбаева, А. И. Булгакова. *Фундаментальные исследования*. 2005. № 6. С. 78–81.

299. Імунологічні аспекти генералізованого пародонтиту (огляд літератури) / Н. М. Савельєва, І. І. Соколова, С. І. Герман, Т. В. Томіліна. *Вісник наукових досліджень*. 2018. № 2. С. 110–115.

300. Effect of homocysteine on properties of neutrophils activated in vivo / E. A. Bryushkova, E. A. Vladychenskaya, M. S. Stepanova, A. A. Boldyrev.



*Biochemistry Mosc.* 2011. Vol. 76, № 4. P. 467–472.

301. Poddar R., Paul S. Novel crosstalk between ERK MAPK and p38 MAPK leads to homocysteine-NMDA receptor-mediated neuronal cell death. *J. Neurochem.* 2013. Vol. 124, № 4. P. 558–570.

302. Homocysteine enhances superoxide anion release and NADPH oxidase assembly by human neutrophils. Effects on MAPK activation and neutrophil migration / M. Alvarez-Maqueda, R. El Bekay, J. Monteseirín et al. *Atherosclerosis.* 2004. Vol. 172, № 2. P. 229–238.

303. Akt is essential to induce NADPH-dependent NETosis and to switch the neutrophil death to apoptosis / D. N. Doua, L. Yip, M. A. Khan et al. *Blood.* 2014. Vol. 123, № 4. P. 597–600.

304. Activation of the Raf-MEK-ERK pathway is required for neutrophil extracellular trap formation / A. Hakkim, T. A. Fuchs, N. E. Martinez et al. *Nat. Chem. Biol.* 2011. Vol. 7, № 2. P. 75–77.

305. Elevated homocysteine levels in type 2 diabetes induce constitutive neutrophil extracellular traps / M. B. Joshi, G. Baipadithaya, A. Balakrishnan et al. *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6. P. 36362.

306. Focussed microarray analysis of apoptosis in periodontitis and its potential pharmacological targeting by carvacrol / F. Zeidán-Chuliá, M. Gursoy, de B. H. Oliveira et al. *Arch. Oral Biol.* 2014. Vol. 59, № 5. P. 461–469.

307. The Role of Apoptotic Factors in Assessing Progression of Periodontal Disease / D. Dabiri, S. Halubai, M. Layher et al. *Int. J. Dent. Oral Sci.* 2016. Vol. 3, № 9. P. 318–325.

308. Molecular differences between chronic and aggressive periodontitis / M. Kepschull, P. Guarnieri, R. T. Demmer et al. *J. Dent. Res.* 2013. Vol. 92, № 12. P. 1081–1088.

309. Wang X. The expanding role of mitochondria in apoptosis. *Genes Dev.* 2001. Vol. 15, № 22. P. 2922–2933.

310. Hyperactivity and reactivity of peripheral blood neutrophils in chronic periodontitis / J. B. Matthews, H. J. Wright, A. Roberts et al. *Clin. Exp. Immunol.* 2007. Vol. 147, № 2. P. 255–264.

311. LPS from *P. gingivalis* and hypoxia increases oxidative stress in periodontal ligament fibroblasts and contributes to periodontitis / L. Gözl, S. Memmert, B. Rath-Deschner et al. *Mediators Inflamm.* 2014. Vol. 2014. P. 986264.

312. Periodontitis in rats induces systemic oxidative stress that is controlled by bone-targeted antiresorptives / S. Oktay, S. S. Chukkapalli, M. F. Rivera-Kweh et al. *J. Periodontol.* 2015. Vol. 86, № 1. P. 137–145.

313. Парахонский А. П., Шмалько Н. М., Цыганок С. С. Значение апоптоза лейкоцитов в иммунопатогенезе пародонтита. *Современные проблемы науки и образования.* 2006. № 2. С. 74–75.

314. Саркисов А. К., Полунина Е. А., Саркисов К. А. Анализ уровня маркера апоптоза аннексина V и стоматологического статуса у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом на фоне бронхоэктатической болезни. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2019. Т. 26, № 2. С. 85–92.

315. Mechanisms involved in the ischemic tolerance in brain: effect of the homocysteine / J. Lehotsky, M. Petras, M. Kovalska et al. *Cell Mol. Neurobiol.* 2015. Vol. 35, № 1. P. 7–15.

316. Homocysteine thiolactone induces apoptotic DNA damage mediated by increased intracellular hydrogen peroxide and caspase 3 activation in HL-60 cells / R. F. Huang, S. M. Huang, B. S. Lin et al. *Life Sci.* 2001. Vol. 68, № 25. P. 2799–2811.

317. Homocysteine elicits a DNA damage response in neurons that promotes apoptosis and hypersensitivity to excitotoxicity / I. I. Kruman, C. Culmsee, S. L. Chan et al. *J. Neurosci.* 2000. Vol. 20, № 18. P. 6920–6926.

318. Bao X. M., Wu C. F., Lu G. P. Atorvastatin inhibits homocysteine-induced dysfunction and apoptosis in endothelial progenitor cells. *Acta Pharmacol.*

*Sin.* 2010. Vol. 31, № 4. P. 476–484.

319. Homocysteine reduces endothelial progenitor cells in stroke patients through apoptosis / M. M. Alam, A. A. Mohammad, U. Shuaib et al. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2009. Vol. 29, № 1. P. 157–165.

320. Homocysteine induces PUMA-mediated mitochondrial apoptosis in SH-SY5Y cells / Y. Jang, J. Kim, J. W. Ko, Y. H. Kwon. *Amino Acids.* 2016. Vol. 48, № 11. P. 2559–2569.

321. Obolenskaya M. Yu., Rodrigues R. R., Martsenyuk O. P. Folate-related processes in human placenta: gene expression, aminothiols, proliferation and apoptosis. *Ukr. Biochem. J.* 2011. Vol. 83, № 1. P. 5–17.

322. Kim W. K., Pae Y. S. Involvement of N-methyl-d-aspartate receptor and free radical in homocysteine-mediated toxicity on rat cerebellar granule cells in culture. *Neurosci. Lett.* 1996. Vol. 216, № 2. P. 117–120.

323. Homocysteine induces glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase acetylation and apoptosis in the neuroblastoma cell line Neuro2a / M. Fang, A. Jin, Y. Zhao, X. Liu. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2016. Vol. 49, № 2. P. e4543.

324. Homocysteine induces melanocytes apoptosis via PERK–eIF2 $\alpha$ –CHOP pathway 2 in vitiligo / J. Chen, T. Zhuang, J. Chen et al. *Clin. Sci. (Lond).* 2020. Vol. 134, № 10. P. 1127–1141.

325. Gingival crevicular fluid calprotectin, osteocalcin and cross-linked N-terminal telopeptid levels in health and different periodontal diseases / S. Becerik, B. Afacan, V. Ö. Oztürk et al. *Disease Markers.* 2011. Vol. 31, № 6. P. 343–352.

326. Bone metabolism and RANKL/RANK/OPG trail in periodontal disease / L. Czupkallo, M. Rahnama, D. Kielbowicz et al. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci.* 2016. Vol. 29, № 3. P. 171–175.

327. RANKL/RANK/OPG system beyond bone remodeling: involvement in breast cancer and clinical perspectives / M. Infante, A. Fabi, F. Cognetti et al. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2019. Vol. 38, № 1. P. 12.

328. Regulation of bone metabolism by Wnt signals / Y. Kobayashi, S. Uehara, N. Udagawa, N. Takahashi. *J. Biochem.* 2016. Vol. 159, № 4. P. 387–392.

329. Рябенко Т. В. Сучасні аспекти репаративної регенерації кісткової тканини та аналіз показників кісткового метаболізму. *Український журнал медицини, біології та спорту.* 2020. Т. 5, № 3 (25). С. 89–97.

330. Безсмертний Ю. О. Частота гіпергомоцистеїнемії у пацієнтів із хибними суглобами довгих трубчастих кісток. *Буковинський медичний вісник.* 2012. Т. 16, № 4 (64). С. 7–10.

331. The role of homocysteine in bone remodeling / T. P. Vacek, A. Kalani, M. J. Voor et al. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013. Vol. 51, № 3. P. 579–590.

332. Homocysteine as a Pathological Biomarker for Bone Disease / J. Behera, J. Bala, M. Nuru et al. *J. Cell Physiol.* 2017. Vol. 232, № 10. P. 2704–2709.

333. Homocysteine enhances bone resorption by stimulation of osteoclast formation and activity through increased intracellular ROS generation / J. M. Koh, Y. S. Lee, Y. S. Kim et al. *J. Bone Miner. Res.* 2006. Vol. 21, № 7. P. 1003–1011.

334. Homocysteine enhances apoptosis in human bone marrow stromal cells / D. J. Kim, J. M. Koh, O. Lee et al. *Bone.* 2006. Vol. 39, № 3. P. 582–590.

335. The peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)  $\alpha$  agonist fenofibrate maintains bone mass, while the PPAR $\gamma$  agonist pioglitazone exaggerates bone loss, in ovariectomized rats / A. K. Stunes, I. Westbroek, B. I. Gustafsson et al. *BMC Endocr. Disord.* 2011. Vol. 11. P. 11.

336. Synergism in hyperhomocysteinemia and diabetes: Role of PPAR gamma and tempol / P. K. Mishra, N. Tyagi, U. Sen et al. *Cardiovasc Diabetol.* 2010. Vol. 9. P. 49.

337. Homocysteine and vitamin B<sub>12</sub> status relate to bone turnover markers, broadband ultrasound attenuation, and fractures in healthy elderly people / R. A. Dhonukshe-Rutten, S. M. Pluijm, L. C. de Groot et al. *J. Bone Miner. Res.* 2005. Vol. 20, № 6. P. 921–929.

338. Atherosclerosis, type 1 collagen cross-linking and homocysteine / M. K. Bode, P. Laitinen, J. Risteli et al. *Atherosclerosis*. 2000. Vol. 152, № 2. P. 531–532.

339. Stimulation of osteoblast activity by homocysteine / M. Herrmann, N. Umanskaya, B. Wildemann et al. *J Cell Mol Med*. 2008. Vol. 12, № 4. P. 1205–1210.

340. Experimental hyperhomocysteinemia reduces bone quality in rats / M. Herrmann, B. Wildemann, L. Claes et al. *Clin. Chem*. 2007. Vol. 53, № 8. P. 1455–1461.

341. Hyperhomocysteinemia induces a tissue specific accumulation of homocysteine in bone by collagen binding and adversely affects bone / M. Herrmann, A. Tami, B. Wildemann et al. *Bone*. 2009. Vol. 44, № 3. P. 467–475.

342. Differential effects of homocysteine and beta aminopropionitrile on preosteoblastic MC3T3-E1 cells / R. Thaler, S. Spitzer, M. Rumpler et al. *Bone*. 2010. Vol. 46, № 3. P. 703–709.

## ДОДАТОК А

Таблиця А.1 – Зміни вмісту гомоцистеїну та гідроген сульфїду у сироватці крові щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75]) (I серія дослідів)

Показник	Група тварин			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	1	2	3	4
ГЦ, мкмоль/л	7,70 (7,40; 8,15)	11,35 (10,15; 11,65)	26,39 (23,99; 29,63)	29,04 (26,45; 33,12)
Критерій Краскела-Уолліса: $H=26,41$ ; $p<0,001^*$				
	$p_{1-2}=0,215$ $p_{1-3}<0,001^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,035^*$ $p_{2-4}=0,002^*$	$p_{3-4}=0,999$	–
H <sub>2</sub> S, мкмоль/л	81,80 (80,30; 90,10)	68,10 (65,05; 76,10)	46,10 (42,70; 48,10)	42,15 (37,95; 45,65)
Критерій Краскела-Уолліса: $H=26,41$ ; $p<0,001^*$				
	$p_{1-2}=0,653$ $p_{1-3}<0,001^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,012^*$ $p_{2-4}=0,001^*$	$p_{3-4}=0,999$	–
Примітка 1. $p_{1-2}$ , $p_{1-3}$ , $p_{1-4}$ – вірогідність відмінностей між контрольною групою і дослідними групами; $p_{2-3}$ , $p_{2-4}$ – вірогідність відмінностей між групою з пародонтитом без супутньої патології і групою з ГГЦ та групою із пародонтитом на тлі ГГЦ; $p_{3-4}$ – вірогідність відмінностей між групою з ГГЦ і групою з пародонтитом на тлі ГГЦ. Примітка 2. * – статистично значущі результати.				

Таблиця А.2 – Зміни вмісту гомоцистеїну та гідроген сульфїду у сироватці крові щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75]) (II серія дослідів)

Показник	Група тварин			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	1	2	3	4
ГЦ, мкмоль/л	7,40 (6,65; 7,65)	9,87 (8,91; 10,60)	25,95 (23,10; 27,70)	27,60 (25,85; 29,90)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=40.58$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,230$ $p_{1-3}<0,001^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,046^*$ $p_{2-4}=0,002^*$	$p_{3-4}=0,999$	–
H <sub>2</sub> S, мкмоль/л	81,25 (78,70; 84,00)	67,35 (64,10; 70,35)	50,58 (38,67; 53,36)	41,90 (40,00; 43,45)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=38.23$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,424$ $p_{1-3}<0,001^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,028^*$ $p_{2-4}=0,002^*$	$p_{3-4}=0,999$	–
Примітка 1. $p_{1-2}$ , $p_{1-3}$ , $p_{1-4}$ – вірогідність відмінностей між контрольною групою і дослідними групами; $p_{2-3}$ , $p_{2-4}$ – вірогідність відмінностей між групою з пародонтитом без супутньої патології і групою з ГГЦ та групою із пародонтитом на тлі ГГЦ; $p_{3-4}$ – вірогідність відмінностей між групою з ГГЦ і групою з пародонтитом на тлі ГГЦ. Примітка 2. * – статистично значущі результати.				

Таблиця А.3 – Зміни вмісту гомоцистеїну та гідроген сульфїду у сироватці крові щурів з пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ (Ме [Q25–Q75]) (III серія дослідів)

Показник	Група тварин			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	1	2	3	4
ГЦ, мкмоль/л	7,10 (6,35; 7,35)	10,80 (9,80; 11,40)	27,05 (24,60; 29,15)	29,60 (27,85; 31,90)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=41,23$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,215$ $p_{1-3}<0,001^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,048^*$ $p_{2-4}=0,001^*$	$p_{3-4}=0,999$	–
H <sub>2</sub> S, мкмоль/л	81,25 (78,75; 85,00)	61,95 (59,60; 64,35)	43,58 (33,17; 45,95)	38,40 (36,50; 39,95)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=39,29$ ; $p<0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,294$ $p_{1-3}<0,001^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,023^*$ $p_{2-4}=0,003^*$	$p_{3-4}=0,999$	–

Примітка 1.  $p_{1-2}$ ,  $p_{1-3}$ ,  $p_{1-4}$  – вірогідність відмінностей між контрольною групою і дослідними групами;  $p_{2-3}$ ,  $p_{2-4}$  – вірогідність відмінностей між групою з пародонтитом без супутньої патології і групою з ГГЦ та групою із пародонтитом на тлі ГГЦ;  $p_{3-4}$  – вірогідність відмінностей між групою з ГГЦ і групою з пародонтитом на тлі ГГЦ.  
Примітка 2. \* – статистично значущі результати.



## ДОДАТОК Б

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Худан Р. І., Корда М. М. Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Клінічна стоматологія*. 2021. № 3 (36). С. 48–58.

2. Вплив хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії на цитокіновий профіль щурів із ліпополісахарид-індукованим пародонтитом / Р. І. Худан, М. В. Кирилів, І. Р. Бекус, М. М. Корда. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. Вип. 3 (161). С. 337–342.

3. Hydrogen sulfide metabolism and its role in the development of periodontal diseases / R. Khudan, N. Svanishvili, Z. Dumbadze, I. Krynytska, M. Marushchak, M. Korda. *Romanian journal of diabetes, nutrition and metabolism*. 2021. Vol. 28, № 3. P. 311–315.

4. Худан Р. І., Корда М. М. Кореляційні взаємодії між показниками кісткового метаболізму та реалізацією програмованої загибелі нейтрофілів крові за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Клінічна стоматологія*. 2021. № 4 (37). С. 52–59.

5. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on phagocytic and metabolic activity of peripheral blood neutrophils in case of lipopolysaccharide-induced periodontitis / R. Khudan, I. Bandas, A. Mykolenko, N. Svanishvili, Z. Dumbadze, I. Krynytska. *Georgian Medical News*. 2021. Vol. 321 (12). P. 119–125.

6. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on connective tissue disorders in case of lipopolysaccharide-induced periodontitis / R. Khudan, M. Kyryliv, I. Bekus, A. Demyd, M. Koval, V. Luchynskyi. *Journal of International Dental and Medical Research*. 2022. Vol. 15, № 1. P. 35–41.

7. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on the features of bone metabolism in case of lipopolysaccharide-induced periodontitis / R. Khudan, I. Krynytska, M. Marushchak, M. Korda. *Dental and Medical Problems*. 2022. Vol. 59, № 2. P. 255–261.

8. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on characteristics of peripheral neutrophils' programmed death in lipopolysaccharide-induced periodontitis / R. Khudan, I. Krynytska, M. Marushchak, M. Korda. *Journal of Stomatology*. 2022. Vol. 75, № 3. P. 155–162.

9. Худан Р. І. Зміни вмісту глікозаміногліканів за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : матеріали підсумкової LXIV наук.-практ. конф., 11 червня 2021 р. Тернопіль, 2021. С. 200–202.

10. Худан Р. І., Гецько Н. В. Особливості кальцій-фосфорного обміну за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Topical issues of modern science, society and education* : abstracts of the 1 st International scientific and practical conference, August 8-10, 2021. Kharkiv, 2021. С. 220–222.

11. Худан Р. І., Гецько Н. В. Особливості ендогенної інтоксикації за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. *Пріоритетні напрями вирішення актуальних проблем медицини* : матеріали міжнародної наук.-практ. конф., 10–11 вересня 2021 р. Дніпро, 2021. С. 18–21.

12. Худан Р. І. Зміни вмісту С-реактивного протеїну за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту на тлі хронічної гіпергомоцистеїнемії. *УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень участю* : матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії, 8 жовтня 2021 р. Полтава, 2021. С. 178–180.

13. Худан Р. І. Особливості функціонування фагоцитуючих клітин крові за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту у поєднанні із хронічною гіпергомоцистеїнемією. *Oral and General Health*. 2021. Т. 2, № 3. С. 63.

14. Khudan R., Krynytska I. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on peripheral blood neutrophils in case of lipopolysaccharide-induced periodontitis. *3<sup>rd</sup> International Conference on Medical and Health Sciences* : abstracts, December 24-25, 2021. Bingol, 2021. P. 135.

## ДОДАТОК В

### **Відомості про апробацію результатів дисертації:**

1. Підсумкова LXIV науково-практична конференція «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (м. Тернопіль 11 червня 2021 р.) *(стендова доповідь і публікація)*.
2. The 1 st International scientific and practical conference – Topical issues of modern science, society and education (Kharkiv, August 8-10, 2021) *(публікація)*.
3. Міжнародна науково-практична конференція «Пріоритетні напрями вирішення актуальних проблем медицини» (м. Дніпро 10–11 вересня 2021 р.) *(публікація)*.
4. Всеукраїнська міждисциплінарна науково-практична конференція з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)», присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії (відповідно до розпорядження Кабінету Міністрів України № 1537-р від 9.12.2020 – Полтавського державного медичного університету) (м. Полтава, 8 жовтня 2021 р.) *(публікація)*.
5. 6-й Національний Український стоматологічний конгрес «Інноваційні технології в стоматології» (м. Київ, 22–23 жовтня 2021 р.) *(стендова доповідь і публікація)*.
6. 3rd International Conference on Medical and Health Sciences (Bingol, December 24-25, 2021) *(усна доповідь і публікація)*.

## ДОДАТОК Г.1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Тернопільського національного  
медичного університету  
імені І.Я. Горбачевського  
МОЗ України  
доктор біологічних  
наук, професор І.М. Кліщ



18 квітня 2022 року

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Особливості впливу хронічної гіпергомоцистеїнемії на показники кісткового метаболізму за умови генералізованого пародонтиту.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІП авторів:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра патологічної фізіології, Худан Роман Іванович.
3. **Джерело інформації:** Khudan R., Krynytska I., Marushchak M., Korda M. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on the features of bone metabolism in case of lipopolysaccharide-induced periodontitis. Dental and Medical Problems. 2022. Vol. 59(2). P. 255-261.
4. **Базова установа, де впроваджено:** кафедра терапевтичної стоматології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України.
5. **Форма впровадження:** у матеріали лекцій і практичні заняття.
6. **Результати впровадження:** використання результатів роботи Худана Р.І. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо впливу супутньої гіпергомоцистеїнемії на кістковий метаболізм і тканини пародонта за умови генералізованого пародонтиту.
7. **Термін впровадження:** 2021-2022 н. р.
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

## Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри терапевтичної стоматології  
Тернопільського національного  
медичного університету  
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України  
доктор медичних наук, професор

М.А. Лучинський

## ДОДАТОК Г.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Тернопільського національного  
медичного університету  
імені І.Я. Горбачевського  
МОЗ України  
доктор біологічних  
наук, професор І.М. Кліщ



18 квітня 2022 року

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Особливості впливу хронічної гіпергомоцистеїнемії на показники кісткового метаболізму за умови генералізованого пародонтиту.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПП авторів:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра патологічної фізіології, Худан Роман Іванович.
3. **Джерело інформації:** Khudan R., Krynytska I., Marushchak M., Korda M. The influence of chronic hyperhomocysteinemia on the features of bone metabolism in case of lipopolysaccharide-induced periodontitis. Dental and Medical Problems. 2022. Vol. 59(2). P. 255-261.
4. **Базова установа, де впроваджено:** кафедра ортопедичної стоматології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України.
5. **Форма впровадження:** у матеріали лекцій і практичні заняття.
6. **Результати впровадження:** використання результатів роботи Худана Р.І. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо впливу супутньої гіпергомоцистеїнемії на кістковий метаболізм і тканини пародонта за умови генералізованого пародонтиту.
7. **Термін впровадження:** 2021-2022 н. р.
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

**Відповідальний за впровадження**

Завідувач кафедри ортопедичної стоматології  
Тернопільського національного  
медичного університету  
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України  
доктор медичних наук, професор

П.А. Гасюк

## ДОДАТОК Г.3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Тернопільського національного  
медичного університету  
імені І.Я. Горбачевського  
МОЗ України  
доктор біологічних  
наук, професор І.М. Кліщ



29 грудня 2021 року

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Патогенетичні особливості ушкодження пародонта за умови коморбідного перебігу генералізованого пародонтиту.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПП авторів:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра патологічної фізіології, Худан Роман Іванович.
3. **Джерело інформації:** Худан Р.І., Корда М.М. Кореляційні взаємодії між показниками кісткового метаболізму та реалізацією програмованої загибелі нейтрофілів крові за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. Клінічна стоматологія. 2021; 4 (37): 52-59.
4. **Базова установа, де впроваджено:** кафедра патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України.
5. **Форма впровадження:** у матеріали лекцій і практичні заняття.
6. **Результати впровадження:** використання результатів роботи Худана Р.І. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо патогенетичних аспектів генералізованого пародонтиту без супутньої патології і на тлі коморбідної гіпергомоцистеїнемії.
7. **Термін впровадження:** 2021-2022 н. р.
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

## Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри патологічної фізіології  
Тернопільського національного  
медичного університету  
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України  
доктор медичних наук, професор

О.В. Денефіль

## ДОДАТОК Г.4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор

з науково-педагогічної роботи

Буковинського державного  
медичного університету

к.мед.н., доцент

Ігор GERUSH

« 28 » 10. 2021р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Патогенетичні особливості коморбідного перебігу генералізованого пародонтиту.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІП авторів:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра терапевтичної стоматології, Худан Роман Іванович.
3. **Джерело інформації:** Худан Р. І., Кирилів М. В., Бекус І. Р., Корда М. М. Вплив хронічної гіпергомоцистеїнемії на цитокіновий профіль щурів із ліпополісахарид-індукованим пародонтитом. Вісник проблем біології і медицини. 2021; Вип. 3 (161): 337-342.
4. **Базова установа, де впроваджено:** кафедра терапевтичної стоматології Буковинського державного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** у навчальний процес – у матеріали лекцій і практичні заняття.
6. **Результати впровадження:** використання результатів роботи Худана Р.І. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо патогенетичних аспектів генералізованого пародонтиту без супутньої патології і на тлі коморбідної гіпергомоцистеїнемії.
7. **Термін впровадження:** 2021 р.
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

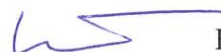
Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри терапевтичної стоматології

Буковинського державного

медичного університету

доктор медичних наук, доцент



Віктор БАТІК



## ДОДАТОК Г.5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор  
з науково-педагогічної роботи  
Буковинського державного  
медичного університету  
доцент І.В. Геруш

„28 жовтня 2021 року

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Патогенетичні особливості коморбідного перебігу генералізованого пародонтиту.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІП авторів:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра терапевтичної стоматології, Худан Роман Іванович.
3. **Джерело інформації:** Худан Р. І., Кирилів М. В., Бекус І. Р., Корда М. М. Вплив хронічної гіпергомоцистеїнемії на цитокиновий профіль щурів із ліпополісахарид-індукованим пародонтитом. Вісник проблем біології і медицини. 2021; Вип. 3 (161): 337-342.
4. **Базова установа, де впроваджено:** кафедра патологічної фізіології Буковинського державного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** у навчальний процес – у матеріали лекцій і практичні заняття.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Худана Р.І. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо патогенетичних аспектів генералізованого пародонтиту без супутньої патології і на тлі коморбідної гіпергомоцистеїнемії.
7. **Термін впровадження:** 2021 р.
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

**Відповідальний за впровадження**  
Завідувач кафедри патологічної фізіології  
Буковинського державного  
медичного університету  
доктор медичних наук, професор

Ю.Є. Роговий

## ДОДАТОК Г.6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перша проректорка  
Івано-Франківського національного  
медичного університету

А.С.С. д-біол.н. проф. Ерстенюк Г.М.  
«05» Листопада 2021 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Патогенетичні особливості коморбідного перебігу генералізованого пародонтиту.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІП авторів:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра терапевтичної стоматології, Худан Роман Іванович.
3. **Джерело інформації:** Худан Р. І., Корда М. М. Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів за умови ліпополісахарид-індукованого пародонтиту без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії. Клінічна стоматологія. 2021; 3: 48-58.
4. **Базова установа, де впроваджено:** кафедра патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** у навчальний процес – у матеріали лекцій і практичні заняття.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Худана Р.І. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо патогенетичних аспектів генералізованого пародонтиту без супутньої патології і на тлі коморбідної гіпергомоцистеїнемії.
7. **Термін впровадження:** 2021 р.
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

**Відповідальний за впровадження**  
Завідувач кафедри патологічної фізіології  
Івано-Франківського національного  
медичного університету  
доктор медичних наук, професор

Л.М. Заяць