

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА**

**Навчально-науковий інститут біології, хімії та біоресурсів  
Кафедра біохімії та біотехнології**

**КЛІНІКО-БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ РОТОВОЇ РІДИНИ ПРИ  
ЗАПАЛЕННІ ТКАНИН ПАРОДОНТУ**

**Кваліфікаційна робота**

**Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)**

***Виконала:***

студентка 4 курсу, 411 групи

**Кіцул Марія Іванівна**

***Керівник:***

кандидат біологічних наук,

асистент **Николайчук І.М.**

До захисту допущено:

Протокол засідання кафедри № \_\_\_\_\_

від „\_\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2023 р.

зав. кафедри \_\_\_\_\_ проф. Копильчук Г.П.

**Чернівці – 2023**

## *Анотація*

Бакалаврська робота присвячена аналізу клініко-біохімічних показників ротової рідини за умов запалення тканин пародонту. У роботі проаналізовано стадії перебігу хронічного пародонтиту в період загострення та через 6 місяців після проведення профілактики.

Зростання пародонтального індексу (до 5,5 одиниць) та позитивна проба йодного числа (6,5 одиниць) вказує на інтенсивний запальний процес тканин пародонту та тлі зсуву кислотно-основної рівноваги в ацидозу, що викликає демінералізацію тканин зуба.

Показано, що стадія загострення хронічного пародонтиту характеризується посиленням еміграції лейкоцитів у ротову порожнину та зниженням рівня лізоциму, що можна розглядати як об'єктивний критерій запальних процесів у яснах на тлі зниження неспецифічної антибактеріальної резистентності ротової порожнини.

Визначення уреазної активності ротової рідини може бути використане для опосередкованого скринінгу обсіменіння ротової порожнини уреазопозитивною мікробіотою з метою обґрунтованого включення протимікробних засобів до комплексу заходів з профілактики утворення твердих зубних відкладень і, отже, запальних захворювань пародонту.

**Ключові слова:** пародонтальний індекс, лейкоцити, лізоцим, уреаз, ротова рідина

### *Annotation*

The bachelor thesis is devoted to the analysis of clinical and biochemical indicators of oral fluid under the conditions of periodontal tissue inflammation. The work analyzed the stages of the course of chronic periodontitis in the period of exacerbation and 6 months after prevention.

An increase in the periodontal index (up to 5.5 units) and a positive iodine number test (6.5 units) indicates an intense inflammatory process of the periodontal tissues and the background of a shift in the acid-base balance into acidosis, which causes demineralization of the tooth tissues.

It is shown that the stage of exacerbation of chronic periodontitis is characterized by increased emigration of leukocytes into the oral cavity and is an objective criterion of inflammatory processes in the gums against the background of a decrease in non-specific antibacterial resistance, which is reflected by a decrease in the level of lysozyme.

Determination of the urease activity of oral fluid can be used for indirect screening of the insemination of the oral cavity with urea-azo-positive microbiota in order to justify the inclusion of antimicrobial agents in the complex of measures to prevent the formation of hard dental deposits and, therefore, inflammatory periodontal diseases.

**Key words:** periodontal index, leukocytes, lysozyme, urease, oral fluid

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

\_\_\_\_\_ М.І. Кіцул  
(підпис)

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП.....</b>	<b>5</b>
<b>РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....</b>	<b>7</b>
1.1. Етіологія та патогенез захворювань пародонту.....	7
1.2. Основні механізми розвитку пародонтиту .....	10
1.3. Розвиток запальних реакцій при пародонтиті .....	12
1.4. Пародонтит та системні захворювання.....	14
1.5. Біомаркери в діагностиці хвороб пародонту.....	18
<b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....</b>	<b>20</b>
2.1. Об'єкти та матеріали досліджень.....	20
2.2. Визначення пародонтального індексу.....	21
2.3. Проба Шіллера-Писарєва .....	21
2.4. Визначення рівня рН ротової рідини.....	22
2.5. Визначення кількості мігруючих лейкоцитів.....	23
2.6. Визначення активності лізоциму .....	23
2.7. Визначення уреазної активності... ..	24
2.8. Статистична обробка даних... ..	25
<b>РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....</b>	<b>26</b>
<b>ВИСНОВКИ... ..</b>	<b>37</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....</b>	<b>39</b>
<b>ДОДАТКИ.....</b>	<b>43</b>

## ВСТУП

Запальні та запально-деструктивні захворювання тканин пародонту – хронічний гінгівіт і пародонтит – одна з найважливіших клінічних та соціально-економічних проблем сучасного суспільства. Це зумовлено як масовістю розповсюдження даної патології (з тенденцією до подальшого підвищення показників), що є однією з основних причин повної втрати зубів, так і негативним впливом вогнищ хронічної інфекції у пародонтальному комплексі на стан соматичного здоров'я [1]. Відповідно до даних ВООЗ близько 95 % дорослого та 80 % дитячого населення планети мають ті чи інші ознаки патологій пародонту. Високий рівень захворюваності відзначається у віці 20–44 роки (65–95 %) та 15–19 років (55–89 %), при цьому жінки хворіють частіше, ніж чоловіки [2].

Виникнення та розвиток захворювань пародонту пов'язані не лише з впливом зовнішніх факторів, а й з порушеннями функцій внутрішніх органів та систем, що сприяє зниженню реактивності організму та призводить до розвитку вторинної імунної недостатності. Вирішальне значення в сучасній концепції етіопатогенезу захворювань пародонту відводиться стану імунної системи та резистентності тканин пародонту до бактеріальної інвазії [3].

Істотний вплив на імунну відповідь має ендокринна система, яка входить до комплексу нейроендокринної регуляції. Дані клінічних та експериментальних досліджень засвідчують несприятливий вплив ендокринних порушень, зокрема гормонального дисбалансу, метаболічного синдрому, цукрового діабету II типу, дисліпідемій тощо [4, 5].

Хронічний генералізований пародонтит (ХГП) супроводжується не лише функціональними розладами зубощелепної системи, а й серйозними метаболічними порушеннями у тканинах пародонту, що підтримує хронізацію процесу, погіршує стан місцевої резистентності, створює умови для подальшої втрати зубів [6].

Відомо, що ключовими етіологічними чинниками розвитку патологічних процесів пародонта виступають бактерії, а також їх ендотоксини та екзо-

токсини, які прямо або опосередковано можуть викликати такі зміни [7]: збільшення проникливості капілярів, внаслідок чого посилюються ексудативні прояви запальних процесів; активацію продукування прозапальних медіаторів; пошкодження мембран лізосом, що призводить до виходу в клітину та поза її межі лізосомальних гідролаз, здатних до лізису клітинних й тканинних компонентів; зміну молекулярної конфігурації тканинних компонентів; цитотоксичну дію, що призводить до посилення запальних процесів [8].

У діагностиці захворювань органів та тканин ротової порожнини суттєва роль належить біохімічним дослідженням ротової рідини, оскільки ХГП супроводжується не лише морфологічними змінами тканин пародонту, але й суттєвими відхиленнями біохімічних показників, що відображає глибину порушення метаболічних процесів у ротовій порожнині. Дослідниками встановлено закономірності між розвитком, тяжкістю запального процесу та змінами біохімічних параметрів ротової рідини [9].

У розвитку запальних захворювань тканин пародонту значну роль відіграють мікроорганізми, агресивність дії яких зумовлена наявністю в їх мембранах протеолітичних ферментів та ендотоксинів, здатних уражати пародонт. У регуляції імунних та метаболічних процесів вагоме значення має лізоцим – фермент, який ініціює синтез лімфокінів, бере участь у регуляції росту клітин та їх диференціації, стимулює метаболічні процеси, здатний інактивувати ізоантигени, що мають у складі глікозаміноглікани та глікопротеїни [10].

Тому дослідження хімічного складу ротової рідини, визначення факторів неспецифічного та специфічного захисту дозволяють вирішувати питання як діагностики, так і вибору тактики раціонального лікування хворих. У зв'язку з цим застосування комплексного клініко-біохімічного аналізу стану ротової порожнини є досить перспективним способом прогнозування перебігу патологічного процесу при захворюваннях пародонту.

**Мета роботи** – проаналізувати клініко-біохімічні показники ротової рідини за умов запалення тканин пародонту.

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Етіологія та патогенез захворювань пародонту

Нині роль певних етіологічних факторів у розвитку захворювань пародонту практично встановлена, проте щодо патогенезу досі існують суперечливі думки. При розгляді причин хвороби сучасна клінічна біохімія наголошує на взаємодії організму та різнобічних зовнішніх і внутрішніх чинників.

Найпоширенішими захворюваннями пародонту є запальні захворювання. Причиною розвитку запалення може бути будь-який ушкоджуючий агент, що перевищує адаптаційні можливості тканин. Усі фактори можна розділити на зовнішні (механічні та термічні впливи, хімічні речовини, мікроорганізми) та внутрішні (продукти азотистого обміну, ефекторні імунокомпетентні клітини, імунні комплекси, комплемент) [11].

Запалення складається із взаємопов'язаних фаз, що послідовно розвиваються:

- 1) альтерація тканин та клітин (процеси ініціації);
- 2) виділення медіаторів (пускові механізми) та реакція мікроциркуляторного русла з порушенням реологічних властивостей крові;
- 3) прояв підвищеної судинної проникності (ексудація та еміграція);
- 4) проліферація клітин з повною регенерацією тканин або утворення рубця [12].

Кожна із фаз готує та запускає наступну, визначаючи інтенсивність та поширеність процесу. Кінцевою метою цих реакцій є усунення ушкодження.

Ексудація, проліферація та альтерація – обов'язкові компоненти запалення. Значення цих трьох компонентів за умов запалення та в різні терміни його існування відрізняється. Переважання альтерації на початку запалення, значущість ексудації в його розпалі та наростання проліферації в результаті запалення створюють хибне уявлення про те, що альтерація, ексудація та проліферація є стадіями запалення, а не його компонентами. Запальні реакції (ек-

судація та проліферація) реалізуються за допомогою філогенетично вироблених механізмів захисту організму та спрямовані на усунення пошкодження та відновлення цілісності організму шляхом регенерації. Водночас активні запальні реакції можуть слугувати інструментом ушкодження: імунні реакції, що протікають в ході ексудації та проліферації, набувають патологічного характеру, ушкоджують тканини і часто можуть визначати прогрес запального процесу [13].

Спотворення механізмів цих реакцій при запаленні може поглиблювати пошкодження, що призводить до стану сенсibiliзації, алергії та прогресування патологічного процесу.

Запальний процес у пародонті закінчується деструкцією або загоєнням. Провідну роль при запальних захворюваннях пародонту відіграють наступні фактори:

- 1) стан та продукти обміну в зубній бляшці та зубному камені;
- 2) фактори порожнини рота, здатні посилювати або послаблювати патогенетичний потенціал мікроорганізмів та продуктів обміну;
- 3) загальні чинники, що регулюють метаболізм тканин ротової порожнини, від яких залежить реакція на патогенні впливи [14].

Пародонтит визначається як «запальне захворювання опорних тканин зубів, спричинене специфічними мікроорганізмами або групами специфічних мікроорганізмів, що призводить до прогресуючого руйнування періодонтальної зв'язки та альвеолярної кістки з утворенням збільшення глибини зондування, рецесії або обох». Якщо не лікувати, це призводить до прогресуючої втрати альвеолярної кістки та втрати зубів. За оцінками, 40–90% населення планети страждає пародонтитом, що робить його однією з найпоширеніших епідемій у світі [15].

До основних мікроорганізмів, причетних до захворювань пародонту, належать бактерії червоного комплексу *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* та *Treponema denticola*. Окрім того, *Fusobacterium nucleatum*, види *Prevotella*, *Eikenella corrodens*,

*Peptostreptococcus micros* і *Campylobacter rectus* також були виявлені в пародонтальних кишнях [16].

Дослідники припускають, що агресивна імунна відповідь, що призводить до вивільнення запальних цитокінів, зокрема IL-1 $\beta$ , проти мікроорганізмів викликає руйнування тканин пародонту. З етіологією пародонтиту пов'язують різноманітні фактори. Основною причиною є погана гігієна порожнини рота, що призводить до утворення зубного нальоту, який містить мікроорганізми. На додаток до цих локальних елементів, низка системних факторів, таких як діабет, серцево-судинні захворювання і вагітність також були пов'язані з пародонтитом. Окрім того, висунуто припущення, що пародонтит сприяє розвитку вищезгаданих системних захворювань і може навіть викликати несприятливі результати вагітності. Водночас такі звички, як куріння, жування бетелевих горіхів і зловживання наркотиками також сприяють прогресуванню пародонтиту [17].

Управління пародонтитом досягається в основному шляхом видалення причинних факторів (зубного нальоту, мікробної біоплівки та зубного каменю) за допомогою видалення зубного каменю та стругання кореня разом з інструкціями щодо гігієни порожнини рота. Антибіотики вважаються корисними при важких станах або у випадку системного ураження. Щоб збільшити функціональне життя природних зубів із серйозною втратою кісткової тканини пародонту, використовуються керована регенерація тканин і кісткова пластика. Імплантотерапія використовується для заміни зубів, втрачених внаслідок великої та неконтрольованої дегенерації кісткової тканини та тканин пародонту [18].

Руйнування тканин пародонту відбувається внаслідок вироблення факторів запалення, що виділяються імунними клітинами. Поліморфноядерні лейкоцити притягуються до вогнища періодонтиту через наявність бактерій. Після стимуляції бактеріальними антигенами лейкоцити виробляють активні форми кисню (АФК), ферменти та дефензини, які розкладають патогени під час

фагоцитозу. Через невибіркову природу АФК уражаються також здорові тканини. Отже, АФК руйнують здорові клітини під час запалення, пошкоджуючи ДНК і стимулюючи вироблення цитокінів макрофагами та моноцитами. Окрім того, дослідники вважають, що АФК можуть відігравати роль в активації остеокластів – клітин, відповідальних за резорбцію кістки. Хворі тканини пародонту містять більшу кількість АФК, ніж здорові тканини через окисне руйнування тканин [19].

## **1.2. Основні механізми розвитку пародонтиту**

Пародонтит – це хронічне запальне захворювання, яке прогресивно впливає на цілісність тканин, що підтримують зуби, і епідеміологічно пов'язане з декількома хронічними захворюваннями, зокрема серцево-судинними, цукровим діабетом 2 типу, ревматоїдним артритом, запальними захворюваннями кишечника, хворобою Альцгеймера, неалкогольною жировою хвороба печінки та деякими видами раку. Тоді як незбалансована взаємодія між пародонтальним мікробіомом/мікробіотою та запальною реакцією хазяїна може легко пояснити локальну деструкцію тканин при пародонтиті, було значною мірою невизначено, чи і як цей незбалансований зв'язок може причинно-наслідково пов'язувати пародонтит із екстраоральні супутні захворюваннями [20].

Недавні дослідження на моделях тварин продемонстрували біологічно правдоподібні механізми, за допомогою яких пародонтит може підвищувати сприйнятливість до супутніх захворювань. Пародонтальні бактерії або локально активовані лімфоцити можуть поширюватися в екстраоральні тканини, де вони можуть спричинити запальні та функціональні ускладнення (наприклад, дисфункцію ендотеліальних клітин, зміни кісткового мозку, дисбактеріоз кишечника та пригнічення імунітету), які посилюють або в деяких випадках випадки навіть ініціюють коморбідні патології. Механізми, що зв'язують пародонтит із екстраоральними супутніми захворюваннями, узгоджуються з клінічними спостереженнями, які асоціюють пародонтит із бактеріємією, системним запален-

ням низького ступеня, підвищенням мієлопоетичної активності та здатністю місцевого пародонтального лікування послаблювати маркери системного запалення та покращувати активність супутнього захворювання [21]. Навпаки, системні захворювання, такі як ЦД 2 типу, можуть сприяти сприйнятливості до пародонтиту шляхом збільшення запального навантаження на пародонт або модуляції пародонтального мікробіому [22].

За даними літератури [23], пародонтит розпочинається з накопичення бактерій у зубному нальоті на поверхні зуба, які вивільняють продукти клітинної стінки (ліпополісахариди та ендотоксини), що активують імунні клітини організму, включаючи моноцити, для продукування прозапальних медіаторів (інтерлейкіну-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), IL-6 і фактору некрозу пухлини- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )). Початкове запалення ясен вважається захисним механізмом проти бактеріальної інвазії. Коли запалення у сприйнятливих осіб не усувається, воно перетворюється на хронічний патологічний пародонтальний процес, в якому бактеріальні антигени презентуються та обробляються клітинами адаптивної імунної системи, включаючи макрофаги та дендритні клітини. Це призводить до вивільнення значної кількості медіаторів запалення, включаючи С-реактивний білок, фібриноген та різні цитокіни, які сприяють хронічному характеру захворювання та руйнуванню тканин пародонту.

Ступінь тяжкості хронічного пародонтиту може бути легким, середнім або важким, а також бути локалізованим або генералізованим. Враховуючи хронічний та епізодичний характер хвороби, більшість доступних інструментів оцінки вимірюють кумулятивний ефект захворювання, а не поточну активність захворювання.

Наразі існує 2 постулованих механізми, що підтверджують зв'язок між хронічним пародонтитом та системним захворюванням:

- 1) метастатична інфекція та дисемінація бактеріальних токсинів;
- 2) імунологічні ушкодження та запалення.

Метастатична інфекція певним чином виглядає надзвичайно схожою на теорію вогнищевої інфекції та характеризується системним поширенням бактерій та/або бактеріальних продуктів з орального джерела. Один із способів проникнення бактерій ротової порожнини в кровоплин – через хворі та виразкові ясенні кишені в результаті пародонтиту. Оральні бактерії виживають у кровоплині та мають здатність прилипати до інших ділянок, що призводить до системного захворювання [24].

Друга механістична теорія передбачає, що системне пошкодження є наслідком запального каскаду, який ініціюється в ротовій порожнині. Коли лейкоцити та ендотеліальні клітини стикаються з антигенами бактеріальної вірулентності в кровоплині, вони виділяють прозапальні медіатори, включаючи С-реактивний протеїн і простагландини. При тривалому впливі бактеріальні антигени утворюють і депонують імунні комплекси за допомогою циркулюючих антитіл для посилення системного запалення. Імунні клітини, включаючи TNF- $\alpha$ , IL-6 та IL-1 $\beta$ , виробляють більше прозапальних цитокінів. Ці цитокіни, як правило, пов'язані з руйнуванням тканин і остеокластогенезом. Під впливом запальних цитокінів простагландини також вивільняються з уражених ясен і пародонту, щоб стимулювати місцеву резорбцію кісткової тканини та відіграють роль у системному запаленні, агрегації тромбоцитів і активації ендотеліальних клітин. Наявність загального запального стану, при якому високий рівень прозапальних цитокінів пов'язаний із низкою системних захворювань, включає атеросклеротичні захворювання судин, утворення виразок шлунково-кишкового тракту та рак [25].

### **1.3. Розвиток запальних реакцій при пародонтиті**

Хоча пародонтит має спільні запальні ефекторні механізми, а також генетичні та набуті фактори ризику з багатьма супутніми захворюваннями, незалежний зв'язок все ще залишається між пародонтитом і супутніми захворюваннями навіть після поправки на спотворюючі фактори. Можливим фактором, який сприяє цьому незалежному зв'язку, є те, що пародонтит може спричинити

системне запалення низького ступеня, яке може вплинути на розвиток супутніх захворювань. Порівняно зі здоровими особами контрольної групи, пацієнти з важким пародонтитом мають підвищені рівні прозапальних медіаторів (таких як IL-1, IL-6, С-реактивний білок і фібриноген) та підвищену кількість нейтрофілів у крові. Проспективне дослідження [26] показало, що недотримання гігієни ротової порожнини пов'язане з підвищеним системним запаленням низького ступеня та підвищеним ризиком серцево-судинних захворювань. І навпаки, успішне місцеве пародонтальне лікування послаблює системні запальні маркери.

Системне запалення, пов'язане з пародонтитом, ймовірно, є результатом гематогенного розповсюдження пародонтальних бактерій або поширення медіаторів запалення з тканин пародонта в кровоплин. У зв'язку з цим виразковий епітелій пародонтальних кишень займає площу поверхні 8–20 см<sup>2</sup> і може пропускати бактерії та їх продукти (наприклад, ліпополісахариди або протеази) до кровообігу, викликаючи бактеріємію, які задокументовані у пацієнтів з пародонтитом. Запалення в позаротових ділянках також може бути викликане орофарингеальним або ородигестивним переміщенням пародонтальних бактерій; перший пов'язаний з аспіраційною пневмонією, тоді як другий пов'язаний з кишковим дисбактеріозом і кишково-опосередкованим системним запаленням. Посилене системне запалення, пов'язане з пародонтитом, може мати численні системні ускладнення [27].

Пародонтальні бактерії можуть транслокуватися через виразковий епітелій пародонтальних кишень у кровообіг, викликаючи бактеріємію та системне запалення. *Porphyromonas gingivalis*, що передається через кров, викликає підвищення рівня IL-6 у сироватці крові, що, в свою чергу, індукує розширення популяції попередників остеокластів (визначених як CD11b<sup>+</sup> CSF1R<sup>+</sup> Ly6C<sup>hi</sup>) у кістковому мозку. Ця популяція попередників остеокластів демонструє посилене зміщення остеокластогенної лінії та заселяє різні сайти резорбції кістки, де вона може диференціюватися у зрілі остеокласти у відповідь на локально виро-

блений рецепторний активатор ліганду NF- $\kappa$ B (RANKL) (наприклад, вироблений остеобластами, стимульованими Т-хелпером). Ця концепція може бути механізмом, за допомогою якого кістковий мозок може зв'язувати пародонтит з іншими розладами втрати кісткової маси, такими як ревматоїдний артрит [28].

#### 1.4. Пародонтит та системні захворювання

Серед численних гіпотез для опису патогенезу можливого зв'язку хронічного пародонтиту/серцево-судинних захворювань є комплексна гіпотеза, запропонована Reyes et al [29]. Вони припускають, що бактерії порожнини рота або їх продукти, які потрапили в кровотік, стимулюють вивільнення прозапальних медіаторів з подальшою активацією або дисфункцією ендотелію та утворенням атероми. Згодом утворена атерома дозріває, містить бактеріальні продукти, що призводить до вироблення антитіл, які можуть перехресно реагувати з ендотеліальними клітинами та сприяти відповіді хелперних Т-клітин (Th1). У результаті макрофаги активуються, запалення посилюється та виникає подія дефекту міжпередсердної перегородки.

Однак дуже складно відрізнити роль ротових бактерій від запальної відповіді як фактора, що сприяє цьому процесу. Спостереження про те, що на тваринних моделях використання протизапальних блокаторів пом'якшує розвиток атером, пов'язаних із хворобою ХП, виглядає сумісним з гіпотезою. Окрім того, нещодавні дослідження на людях показали, що пацієнти з підвищеними сироватковими Рg-антитілами (IgG) мають вищий артеріальний тиск (систоличний і діастолічний), а також пародонтальні бактерії в атеромних бляшках [30].

Думка про те, що пародонтит спричиняє системні метаболічні ускладнення, підтверджується дослідженнями на гризунах, підданих процедурам, які використовувалися як експериментальні моделі пародонтиту, таким як лігатурно-індукований періодонтит або оральний зонд із збудниками пародонту людини. Подібно до того, що спостерігається при пародонтиті людини, експериментальний періодонтит тварин викликає підвищення сироваткових рівнів білків гострої фази (таких як СРБ і сироватковий амілоїд А) і запальних цитокінів (наприклад, ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-6) і, таким чином, є відповідною моделлю для вивчення

зв'язку пародонтиту з системними супутніми захворюваннями. Лігатурно-індукований періодонтит у щурів призводить до судинного запалення та ендотеліальної дисфункції, що супроводжується збільшенням кількості нейтрофілів та підвищенням рівнів СРБ, ІЛ-6 та холестеролу ЛНГ у сироватці крові. Запалення судин, ймовірно, можна частково пояснити індукованою періодонтитом активацією циркулюючих моноцитів і їх посиленою адгезією до ендотеліальних клітин аорти через ядерну транслокацію р65 ядерного фактора-кВ (NF-кВ) і активацію VCAM1 в останніх [26].

У мишей, яких годували дієтою з високим вмістом жирів, пероральний зонд із комбінацією трьох збудників пародонту людини (*Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* і *Prevotella intermedia*) не тільки викликав локальну запальну втрату кісткової маси, але також, як виявилось, посилював індуковану ліпідозалежну непереносимість глюкози та резистентність до інсуліну та збільшення співвідношення маси жирової тканини до сухої тканини. Ці результати були відтворені на мишах, що споживали високожирову дієту, яким постійно вводили ліпополісахарид *P. gingivalis* з низькою швидкістю, імітуючи хронічне системне запалення низького ступеня. Крім того, пародонтальні патогени можуть потенційно посилити резистентність до інсуліну через свою метаболічну активність. У моделі *P. gingivalis*-індукований пародонтит у мишей, яких годували дієтою з високим вмістом жирів, інфекція організмом дикого типу, але не мутантів із дефіцитом амінотрансфераз амінокислот із розгалуженим ланцюгом, призвело до підвищення рівня лейцину, ізолейцину та валіну в сироватці крові та резистентності до інсуліну, порівняно з неінфікованими мишами, яких годували високожировим раціоном. Це узгоджується з уявленням про те, що підвищені циркулюючі АРБЛ сприяють підвищенню ризику ЦД 2-го типу. Інсулінорезистентність, пов'язана з періодонтитом, і гіперглікемія, що виникає в результаті, також можуть індукувати утворення кінцевих продуктів глікації, що призводить до посилення активації прозапального рецептора для

RAGE, який бере участь у кількох метаболічних порушеннях, включаючи запалення судин і атеросклероз, а також при експериментальному періодонтиті у діабетичних мишей [31].

У моделі неалкогольного гепатостеатозу в мишей внутрішньовенне введення *P. gingivalis* (але не пероральних стрептококових видів) значно збільшило масу тіла та печінки та підвищило концентрацію аланінамінотрансамінази та триацилгліцеролів у печінці порівняно з контролем. Подібним чином інфекція *P. gingivalis* у мишей, які піддалися стеатогепатиту, сприяла розвитку стеатозу та активації зірчастих клітин печінки, тим самим спричиняючи більш серйозний фіброз, пов'язаний зі зміненим метаболізмом жирних кислот у печінці. Це пояснюється підвищеним окислювальним стресом і пероксидним окисненням ліпідів, про що свідчать нижчі концентрації глутатіону та вищі концентрації малонного альдегіду, ніж у нелігованих контрольних тварин.

Хоча системне запалення, спричинене пародонтальними патогенами, що передаються через кров, може значною мірою пояснити метаболічні зміни, не можна виключити пряму дію транслокованих патогенів у печінці. У зв'язку з цим у мишей, підданих періодонтиту, життєздатні ротові бактерії можна було відновити з печінки та селезінки, доки не було видалено уражені періодонтитом зуби. Більше того, системне запалення, пов'язане з пародонтитом, також може бути опосередковане проковтнутими ротовими бактеріями, які за певних умов викликають дисбактеріоз кишечника та підвищену проникність кишечника з подальшою ендотоксемією та системним запаленням. У зв'язку з цим більшість видів бактерій кишкового мікробіому, пов'язаних із цирозом печінки, мають оральне походження. Ці важливі клінічні знахідки свідчать про переміщення бактерій із ротової порожнини до кишечника, що, ймовірно, спричинене порушенням секреції шлункової кислоти та жовчних солей у пацієнтів із цирозом. У контексті дезадаптації осі рот–кишечник–печінка пероральна інфекція мишей, яких годували високоліпідною дієтою, збудником пародонту *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* призвела до змін кишкової мікробіоти та посилення непереносимості глюкози, резистентності до інсуліну та стеатозу печінки [32].

Численні клінічні дослідження виявили геномну ДНК пародонтальних бактерій у системних тканинах; однак є обмежені докази їх присутності в життєздатному стані. Хоча пародонтальні бактерії розробили імунні підривні стратегії, які дозволяють їм процвітати в пародонтальних кишнях, циркулюючі пародонтальні патогени можуть бути більш вразливими до фагоцитарного знищення в крові або в системних тканинах. Тим не менш, навіть якщо присутність життєздатних пародонтальних бактерій у системних тканинах тимчасова, їхні ефекти – наприклад, вивільнення факторів вірулентності, таких як токсичні протеази, або їх індукція запалення – може бути важливою, враховуючи хронічний перебіг пародонтиту та частоту бактеріємії, які виникають не лише під час професійної стоматологічної допомоги (наприклад, видалення патогенної зубної біоплівки, видалення зуба), але й під час звичайних дій (наприклад, чищення зубів чи жування). Пародонтальні бактерії, такі як *P. gingivalis*, також виявляються (шляхом секвенування рибосомальної ДНК 16S) у дендритних клітинах мієлоїдного походження крові (mDC) [33].

Нещодавні дослідження на тваринах показують, що пародонтальні патогени можуть сприяти запаленню кишечника, впливаючи на дисбактеріоз кишечника та бар'єрну функцію, що свідчить про двонаправлений зв'язок між двома розладами.

Пародонтит мишей, викликаний пероральним введенням *P. gingivalis* окремо або з іншими пародонтальними патогенами (*F. nucleatum* і *P. intermedia*), змінює мікробіоту кишечника і призводить до зниження експресії епітеліальних білків щільного з'єднання в дванадцятипалій кишці та збільшення експресії прозапальних цитокінів в товстому кишечнику [4].

Пародонтит асоціюється також із підвищеною активністю захворювання у пацієнтів з ревматоїдним артритом, а місцеве пародонтальне лікування зменшує тяжкість артриту. Хоча системне запалення, пов'язане з пародонтитом, ймовірно, сприяє цьому зв'язку, два патогени пародонту можуть незалежно один від одного сприяти зв'язку між пародонтитом і ревматоїдним артритом. Зокрема, за допомогою різних механізмів *P. gingivalis* і *A. actinomycetem-*

*comitans* можуть сприяти виробленню антитіл проти цитрулінового білка (АСРА), які спостерігаються у пацієнтів з ревматоїдним артритом. Порушення імунної толерантності до цитрулінованих білків у людей, схильних до ревматоїдного артриту, пов'язане з алелями HLA-DRB1, що кодують спільний епітоп, який вибірково зв'язується з цитрулінованими пептидами. Цитруліновані білки містяться у більшій кількості в запаленому пародонті, ніж у здорових тканинах, і АСРА виявляються в кровообігу до появи симптомів ревматоїдного артриту та корелюють із тяжкістю захворювання [26].

### 1.5. Біомаркери в діагностиці хвороб пародонту

Нині дослідження рідин ротової порожнини – слини та ясенної рідини – один із найперспективніших напрямків у клініко-біохімічній діагностиці. Фахівці оцінюють ротову рідину як «діагностичний індикатор, що відображає стан органів порожнини рота та всього організму. Доступність та неінвазивність збирання необхідної кількості матеріалу для дослідження мають великі понеційні можливості для використання у практиці. Деякі компоненти ротової рідини (мікроелементи, гормони тощо) відображають їх вміст у крові, за мікробіологічними й імунологічними показниками виявляють стан нормо- або дисбіозу, рівень імунного захисту» [34].

Ясенна рідина – це фізіологічне середовище організму, яке в нормі заповнює ясенну борозенку. У ясенній рідині містяться лейкоцити, мікроорганізми, ферменти, білкові фракції, десквамовані клітини епітелію. У нормі протягом доби в ротову порожнину надходить 0,5-2,4 мл ясенної рідини. Механізм утворення та виділення останньої остаточно не встановлений. Вважають, що при інтактному пародонті причиною її утворення є осмотичний градієнт, а при запаленні слизової оболонки ясенного краю рідина надходить у ясенну борозенку внаслідок порушення мікроциркуляції, що супроводжується збільшенням проникності судин.

Факторами, що визначають кількість ясенної рідини, є коефіцієнт фільтрації та осмотичний тиск у різних ділянках ясен. Кількість ясенної рідини в нормі невелика і залежить від часу доби (вранці зменшується, а ввечері збільшується), розташування зуба, стан пародонту. У порівнянні з інтактним пародонтом, при хронічному катаральному гінгівіті кількість ясенної рідини вище в 4,6 рази, пародонтиті – 10,5 рази.

Ясенна рідина у різних співвідношеннях містить такі компоненти:

- ✓ мікроорганізми та їх метаболіти;
- ✓ елементи плазми;
- ✓ міжклітинна рідина тканин ясен;
- ✓ лейкоцити [1].

Запалення пародонту супроводжується підвищенням у слині активності катепсинів D і B та слабколузних протеїназ. При цьому знижується вільна антитрипсична активність, але у 1,5 рази зростає активність місцевопродукуючих кислостабільних інгібіторів протеїназ, більшість яких перебуває у комплексі з протеїназами. Змінюються і властивості самих кислостабільних інгібіторів, що пов'язано з утворенням їх частково розщеплених форм під дією різних протеаз.

У слині зростає активність АЛТ та АСТ. Для пародонтиту характерно підвищення активності гіалуронідази,  $\beta$ -глюкуронідази та її інгібітора. Активність пероксидази зростає в 15-16 разів, а вміст лізоциму знижується на 20-40%. Зміни захисної системи поєднуються зі збільшенням кількості тіоціанатів у 2-3 рази. Зміст імуноглобулінів коливається неоднозначно, але завжди збільшується кількість плазмових IgG та IgM [9].

При запаленні пародонту та патології слизової оболонки ротової порожнини активуються процеси вільнорадикального окислення, яке характеризується збільшенням в слині кількості малонового діальдегіду та підвищенням активності супероксиддисмутази. З плазми крові при кровоточивості ясен, а також через ясенну рідину в слину надходить глутатіонпероксидаза, активність якої в нормі не визначається.

При пародонтиті також змінюється активність нітратредуктази та вміст нітритів. При легкій та середній тяжкості пародонтиту активність нітратредуктази знижується, проте при загостренні процесу при пародонтиті тяжкого ступеня активність ферменту зростає порівняно з нормою вдвічі, а кількість нітритів зменшується у 4 рази [15].

## РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 2.1. Об'єкти та матеріали досліджень

У роботі проаналізовані результати клініко-лабораторних досліджень у 42 пацієнтів віком 47–62 років, які впродовж 2020-2022 рр. зверталися у стоматологічну клініку «Ol. Dent» м. Чернівці для надання різного виду стоматологічних послуг.

У більшості клінічних випадків зазначено, що скарги пацієнтів у переважній більшості пов'язані з рухомістю мостоподібних протезів, наявністю болювої симптоматики, кровоточивістю ясен та неможливістю повноцінного харчування. Встановлений клінічний діагноз – генералізований пародонтит різного ступеня тяжкості.

При аналізі анамнезу пацієнтів відзначено, що на генералізований пародонтит вони страждають упродовж 10–15 років. Протягом цього часу хворі періодично зверталися по допомогу до лікарів-стоматологів. Комплексне лікування, що включало терапевтичне, хірургічне та ортопедичне втручання, здійснювали приблизно 5–7 років тому.

Після проведення ортопедичного етапу лікування пацієнти декілька разів проходили лікування в пародонтолога, що включало застосування ін'єкцій препаратів «Лінкоміцин» і «Траумель» та аплікацію «Метрогіл дента».

Для оцінки стану тканин пародонту визначали глибину пародонтальної кишені, величину рецесії та клінічну втрату прикріплення. Для оцінки стану та структури кісткової тканини альвеолярних відростків щелеп застосовували рентгенологічний метод дослідження та внутрішньоротову контактну рентгенографію.

Стан пародонту оцінювали за рівнем пародонтального індексу (ПІ) та пробєю Шіллера-Писарева, що відображає ступіть запалення ясен.

Серед клініко-біохімічних показників у ротовій рідині визначали кількість емігруючих лейкоцитів, вміст лізоциму та активність уреаз.

## 2.2. Визначення пародонтального індексу

Пародонтальний індекс (ПІ) дозволяє умовно оцінювати стан тканин пародонту за 8-бальною системою [35]:

- 0 – немає запалення;
- 1 – легке запалення ясен, що не оточує зуб циркулярно;
- 2 – гінгівіт, запалення навколо зуба, але без видимого порушення цілісності прикріпленого епітелію (відсутня пародонтальна кишеня);
- 4 – початковий ступінь резорбції вершин міжальвеолярних перегородок, що виявляється при рентгенологічному дослідженні;
- 6 – гінгівіт з утворенням пародонтальної кишені, без видимих порушень функції пародонту, зуб не рухливий;
- 8 – виражена деструкція тканин пародонту із втратою жувальної функції, зуб легко рухається, може бути зміщений.

Для визначення індексу підсумовують значення та ділять на кількість обстежених зубів:

- 0 – 0,1 – клінічно незмінені ясна;
- 0,2 – 1 – легкий гінгівіт;
- 1,1 – 1,9 – початковий та I ступінь генералізованого пародонтиту;
- 2 – 4 – II ступінь генералізованого пародонтиту;
- 4,1 – 8 – III ступінь генералізованого пародонтиту.

## 2.3. Проба Шіллера-Писарєва

Проба Шіллера-Писарєва ґрунтується на виявленні глікогену в яснах, вміст якого різко зростає при запаленні за рахунок відсутності кератинізації епітелію. В епітелії здорових ясен глікоген або відсутній, або є його сліди. Залежно від інтенсивності запалення забарвлення ясен при змащуванні слизової оболонки йод-йодиднокалієвим розчином змінюється від світло-коричневого до темно-бурого кольору [35].

За наявності здорового пародонту різниці у фарбуванні ясен виявляється. Проба може також бути критерієм ефективності проведеного лікування, оскільки протизапальна терапія знижує кількість глікогену в яснах.

Для характеристики запалення прийнято таку градацію:

- забарвлення ясен у солом'яно-жовтий колір – негативна проба;
- забарвлення слизової оболонки у світло-коричневий колір – слабопозитивна проба;
- забарвлення в темно-бурий колір – позитивна проба.

Пробу Шиллера-Писарева для об'єктивізації можна виражати в цифрах (балах), оцінюючи забарвлення сосочків у 2 бали, забарвлення краю ясен – 4 бали та забарвлення альвеолярних кишень ясен – 8 балів. Отриману загальну суму балів слід розділити на число зубів, в області яких проведено дослідження за формулою:

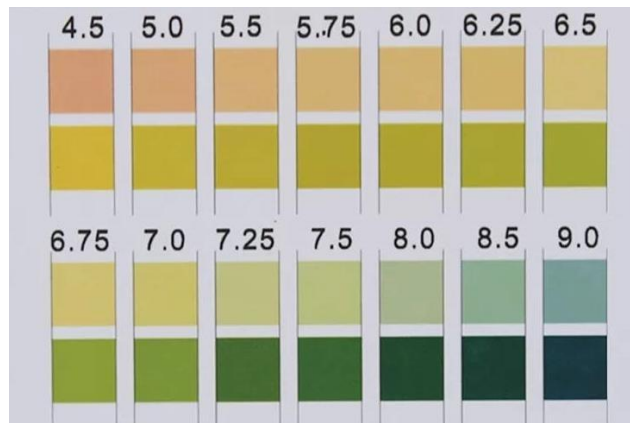
**Йодне число = сума оцінок кожного зуба/кількість обстежених зубів**

Таким чином можна визначити цифрове значення проби або йодне число в балах. Оцінка значень йодного числа: слабо виражений процес запалення – до 2,3 балів, помірно виражений процес запалення – від 2,67 до 5,0 балів, інтенсивний запальний процес – від 5,33 балів до 8,0 балів.

Пробу Шиллера-Писарева проводять при захворюваннях пародонту до та після лікування; вона не є специфічною, однак, якщо неможливо використовувати інші тести, може бути відносним показником динаміки запального процесу під час лікування.

#### **2.4. Визначення рівня рН ротової рідини**

Рівень рН ротової рідини визначали за допомогою стандартних лакмусових тест-смужок, які на 10-20 секунд поміщали в пробірку. Отримане забарвлення порівнювали зі шкалою рН.



## 2.5. Визначення кількості емігруючих лейкоцитів

Активність патологічного процесу визначають підрахунком інтенсивності еміграції лейкоцитів [35]. Дослідження проводять наступним чином: хворий ополіскує рот 10 мл фізіологічного розчину протягом 30 с. Полоскання повторюють 8 разів із проміжками 5 хв. Останні 3 порції збирають у пробірки для дослідження. Кожну порцію розводять у 8 разів, підфарбовують 1% водним розчином трипанового синього та 1% водним розчином конго червоного (по 1 краплі), ретельно збовтують.

Піпеткою заповнюють спеціальну камеру глибиною 1 мм. Після цього підраховують кількість лейкоцитів та клітин десквамованого епітелію в кожній порції і роблять розрахунок на 1 мм<sup>3</sup> промивної рідини.

У нормі 80 % лейкоцитів, які емігрували в порожнину рота, життєздатні, зберігають рухливість та функцію фагоцитозу протягом 2,5 годин. У 1 мл змивної рідини кількість лейкоцитів дорівнює 40000.

## 2.6. Визначення активності лізоциму

Для дослідження використовували ротову рідину, яку збирали натще в стерильні марковані епендорфи з наступним центрифугуванням впродовж 10 хв при 500 об/хв.

Для проведення реакції у дослідний зразок додавали 300 мкл 0,06 М фосфатного буферного розчину, рН 6,0, 100 мкл субстрату пептидоглікану, підфарбованого 2 % розчином конго червоного та 100 мкл біологічної рідини.

Для приготування контрольного зразка в епендорф вносили буферний розчин із відповідним рН в кількості 300 мкл, 100 мкл 0,9 % розчину NaCl та 100 мкл ротової рідини, щоб нівелювати вплив оптичної густини біологічної рідини на результати визначення активності ферменту.

Зразки інактивували в термостаті при температурі 37 °С впродовж 24 год з подальшим 10-ти хвилинним центрифугуванням при 500 об/хв для осадження негідролізованого субстрату. Після цього по 150 мкл надосадової рідини переносили в лунки 96-лункового полістиролового планшету. Планшен поміщали в багатоканальний спектрофотометр, де при довжині хвилі 492 нм визначали екстинкцію дослідних та контрольних зразків.

Результат для кожного зразка ротової рідини розраховували за різницею між середніми показниками двох дослідних та двох контрольних проб.

Активність лізоциму визначали за формулою:

$$X = 7318,72 \times (E_{\text{досл.}} - E_{\text{к.}})^{2,26},$$

X – кількість лізоциму в мкг/мл,

$E_{\text{досл.}}$  – екстинкція дослідної проби,

$E_{\text{к.}}$  – екстинкція контрольної проби

Пацієнтів, у яких рівень лізоциму > 340 мкг/мл у ротовій рідині, відносять до групи хворих із низькою неспецифічною протиінфекційною резистентністю організму [36].

## 2.7. Визначення уреазної активності

Ротову рідину для дослідження збирають вранці натще і до чищення зубів у сухий стерильний посуд об'ємом 0,5-1,0 мл. Для осадження муцину ротової рідини для зниження її в'язкості (при повному збереженні уреазної активності) зразок поміщають в морозильну камеру холодильника (-18 °С) на 5 хвилин. Потім центрифугують упродовж 5 хвилин при 1500 об/хв, для продовження аналізу використовують надосадову рідину.

Використовуються реактиви з комерційного набору реагентів для визначення концентрації сечовини у біологічних рідинах уреазним фенол/гіпохлоритним методом [37].

У лунку 1 (негативний контроль, концентрація уреазни – 0 Од/л) вносять 90 мкл 50 мМ фосфатного буферу, рН 7,0, 10 мкл 5 мМ водного розчину сечовини і 10 мкл дистильованої води.

У лунки 2 і 3 (лунки з відомою концентрацією уреазни для побудови калібрувальної кривої) вносять 90 мкл фосфатного буферу, 10 мкл водного розчину сечовини і 10 мкл розчинів уреазни (концентрація 5 та 10 Од/л відповідно), приготованих з 10 Од/л розчину уреазни, що входить до складу набору.

Наступні лунки мікропланшету (93 лунки) – дослідні, в них вносять по 90 мкл фосфатного буферу, 10 мкл водного розчину сечовини і 10 мкл зразків ротової рідини. Вміст лунок обережно перемішують та інкубують 5 хвилин при температурі 20-25 °С. Потім у всі лунки вносять по 100 мкл фенол/нітропрусидного реагенту та гіпохлориту, обережно перемішують та інкубують 15 хвилин при температурі 37 °С.

Після інкубації вимірюють значення екстинкції при довжині хвилі 546 нм згідно інструкції. Попередньо в програмі мікропланшетного рідера позначають лунки з негативним контролем, кількість лунок і концентрацію в них уреазни (Од/л) та лунки зі зразками ротової рідини. На основі фотометрії програма мікропланшетного рідера будує калібрувальну криву, за якою програма автоматично розраховує концентрацію уреазни у зразках ротової рідини в Од/л.

При значенні уреазної активності вище  $15,85 \pm 2,11$  Од/л реєструють обсіменіння ротової порожнини уреазопозитивною мікробіотою.

## 2.8. Статистична обробка даних

Статистичну обробку експериментальних даних проводили відповідно до методів, прийнятих у варіаційній статистиці, з використанням критерію t-Стюдента та вільного програмного забезпечення. Відмінності вважали достовірними, коли можливість помилки становила  $p \leq 0,05$ .

### РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Хронічний генералізований пародонтит – одне з найпоширеніших захворювань пародонту, його частота становить близько 40–75 % і має тенденцію до наростання. Головною причиною запальних змін у пародонті є зубна бляшка, що сприяє інвазії мікрофлори в тканині та подальшому розвитку запально-деструктивного процесу з розсмоктуванням кісткової тканини альвеолярних відростків щелеп.

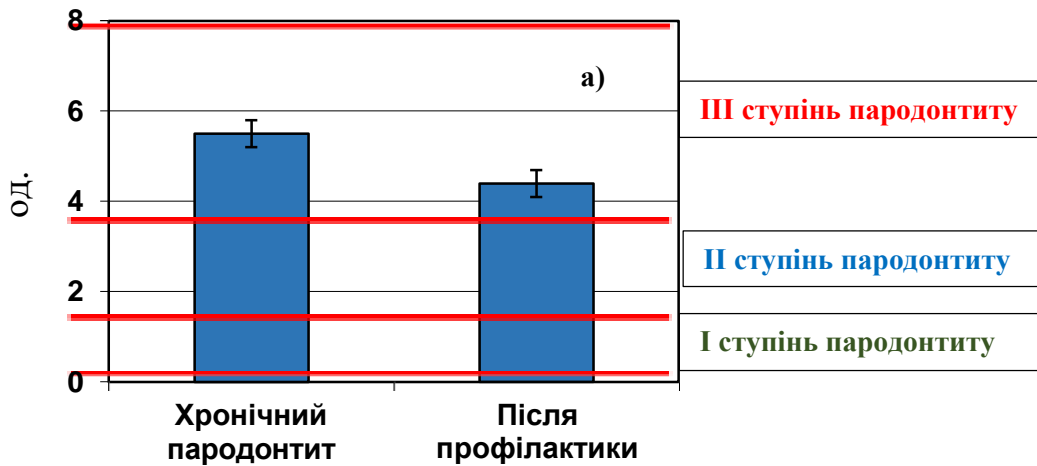
Вплив інших місцевих та загальних факторів розцінюється як другорядні. Факторами, які можуть вплинути на цей симбіоз між імунозапальною реактивністю хазяїна та підясневим мікробіомом, є надмірне бактеріальне навантаження в підясневих ділянках і неправильна, зазвичай надмірна, імунна відповідь господаря, спричинена генетичними, поведінковими або системними чинниками, із рекрутуванням імунних клітин та дисрегульованим синтезом прозапальних цитокінів, хемокинів, металопротеїназ та активацією активності остеокластів [4].

Водночас результати клінічних та експериментальних робіт свідчать про значну роль нейроендокринних, нейроімунних, психологічних та інших факторів у патогенезі запально-дистрофічного процесу в пародонті. Психологічний дискомфорт, стрес тощо, викликані пародонтитом, впливали на якість життя пацієнтів [7].

Аналіз результатів лабораторних досліджень щодо стану тканин пародонту в пацієнтів до проведення профілактики вказує на те, що в більшості хворих

Спостерігалася виражена деструкція тканин пародонту із втратою жувацької функції, зуби легко рухалися та/або були зміщеними.

Через 6 місяців після проведення стоматологічної профілактики пародонтальний індекс пацієнтів знизився на 20 % та становив 4,4 одиниці, що все-таки відповідає III ступеню тяжкості захворювань тканин пародонту (рис. 3.1, а).



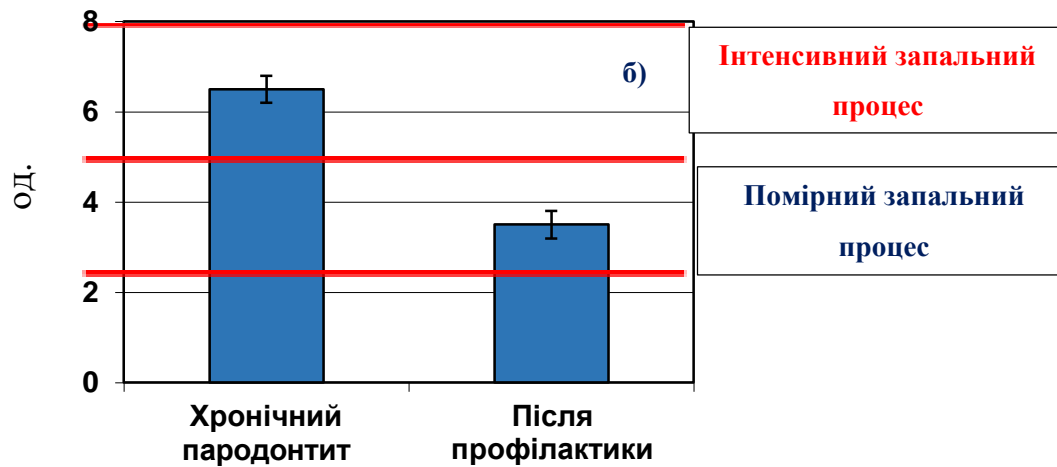
**Рис. 3.1. Пародонтальний індекс у пацієнтів при запаленні тканин пародонту**

Локалізований пародонтит викликається місцевими причинами: травмування тканин пародонту при дефектах пломбованих зубів, ортопедичними або ортодонтичними конструкціями, токсичними засобами (формальдегід тощо), оклюзійна травма внаслідок раннього видалення молярів, фізична травма з наступним посттравматичним остеолізом кістки. Локалізований пародонтит зустрічається часто, тому прогноз може бути сприятливий за можливості припинення дії травмуючого фактора та проведення курсу адекватної терапії [11].

Причинами розвитку хронічного пародонтиту можуть бути місцеві та загальні фактори, які спочатку призводять до появи гінгівіту, а потім запалення з ясен поширюється на прилеглі тканини. Клінічні прояви пародонтиту дуже різноманітні та залежать від тяжкості перебігу та поширеності патологічного процесу. У клініці частіше діагностується хронічний генералізований пародонтит. В основі розвитку генералізованого пародонтиту лежить порушення бар'єрної функції пародонту та імунологічної реактивності організму, на тлі яких місцеві причини призводять до появи, поступового поширення та поглиблення запально-деструктивних механізмів [15].

Підтвердження цього слугує позитивна проба Шиллера-Писарева (йодне число) у пацієнтів із запаленням тканин пародонту, що до проведення профілактики відображала інтенсивний запальний процес (від 5,3 балів до 8,0 балів) та

помірно виражений процес запалення – від 2,7 до 5,0 балів після 6 місяців рекомендованої терапії (рис. 3.1, б).



**Рис. 3.1. Проба Шиллера-Писарєва (йодне число) при запаленні тканин пародонту**

Фарбування йод-йодисто-калієвим розчином відбувається в ділянках, де є глибоке ураження сполучної тканини. Воно пов'язане із накопиченням великої кількості глікогену у місцях запалення.

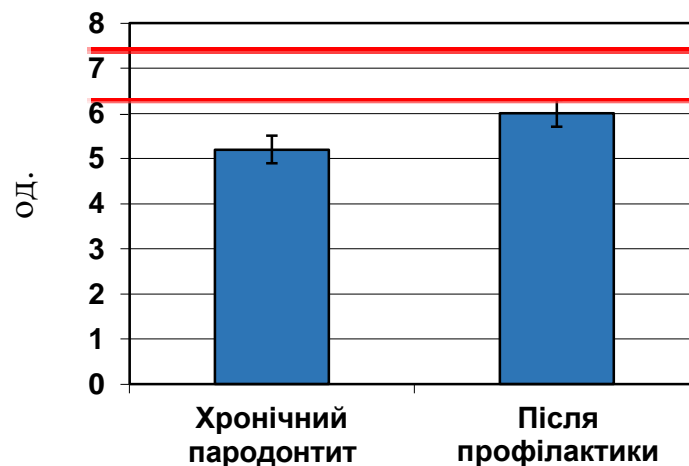
Відомо, що «незроговілий епітелій порожнини рота людини здатний до синтезу і накопичення великої кількості глікогену. Як правило, грудочки глікогену розташовуються в цитоплазмі клітин шипуватого шару і часто в поверхневих клітинах епітеліального пласта. Найбільше глікогену міститься в епітелії слизової оболонки губ, щік, м'якого піднебіння, перехідних складок і язика. Навпаки, в епітелії твердого піднебіння і ясен глікоген в нормі відсутній або виявляється у вигляді слідів. Таким чином, є залежність між кількістю глікогену і виразністю процесу зроговіння. При патології, коли процес зроговіння слабшає або відсутній, вміст глікогену різко зростає» [38].

Епітелій порожнини рота піддається різним фізичним та хімічних впливам, пов'язаними із споживанням їжі. Слина здатна захистити епітелій верхньої частини травного тракту, а також емаль зуба. Однією з форм захисту є збереження та підтримання рН-середовища в ротовій порожнині.

Оскільки змішана слина є суспензією клітин рідкого середовища, що омиває зубний ряд, то кислотно-основний стан порожнини рота визначається швидкістю слиновиділення, спільною дією буферних систем слини, а також метаболітами мікроорганізмів, кількістю зубів та частотою їх розташування у зубній дузі. Значення рН змішаної слини в нормі коливається від 6,5 до 7,5 із середньою величиною близько 7,0 [24].

Змішана слина містить три буферні системи: гідрокарбонатну, фосфатну та білкову. Разом ці буферні системи формують першу лінію захисту проти кислотних або лужних впливів на тканині ротової порожнини. Усі буферні системи порожнини рота мають різні межі буферної ємності: найбільш активна фосфатна при рН 6,8–7,0, гідрокарбонатна при рН 6,1–6,3, а білкова забезпечує буферну ємність при різних значеннях рН.

При аналізі результатів лабораторних досліджень пацієнтів із запаленням тканин пародонту до проведення профілактики зазначено, що рівень рН ротової рідини значно знижувався та знаходився в межах 5,2 (рис. 3.2).



**Рис. 3.2. Рівень рН у ротовій рідині при запаленні тканин пародонту**

За даними літератури [39], за рівнем рН можна говорити про рівень демінералізації тканин зуба.

Основною буферною системою слини є гідрокарбонатна. Під час жування буферна ємність гідрокарбонатної системи забезпечується на основі рівноваги:

$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$  Жування супроводжується підвищенням слиновиділення, що призводить до збільшення концентрації гідрокарбонату в слині. Через те, що кінцеві продукти реакцій не накопичуються, відбувається повне видалення кислот. Цей феномен отримав назву «буфер-фаза».

Слина постійно підтримує нейтральну реакцію (рН = 6,5-7,5, середнє значення 7,0) середовища порожнини рота, оскільки має виражену буферну ємність завдяки розчиненню в ній фосфатів та білків. Завдяки буферним системам у практично здорових людей рівень рН змішаної слини відновлюється після їжі до вихідного значення протягом декількох хвилин. При неспроможності буферних систем рН змішаної слини знижується, що супроводжується збільшенням швидкості демінералізації емалі та ініціює розвиток каріозного процесу [27].

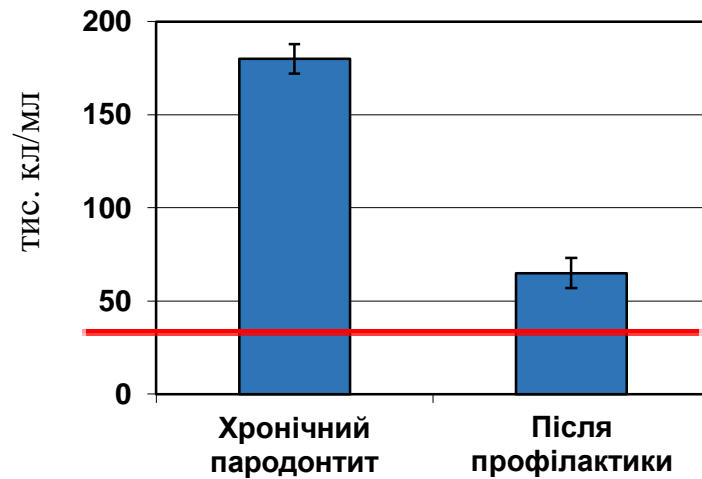
Відповідно до «сучасних уявлень передумовою карієсу є тривалий вплив кислот на тканини зуба. При зниженні рН слини протейнова буферна система утримує вільний кальцій у великих кількостях: одна молекула білка слини зв'язує близько 130 атомів кальцію. Це сприяє демінералізації твердих тканин зуба».

Окрім того, «слина – біологічна рідина, перенасичена гідроксиапатитом. Даний факт перешкоджає розчиненню емалі і сприяє дифузії в емаль іонів кальцію і фосфору. Ступінь перенасичення найбільша в осіб з високим рівнем карієсорезистентності. На ступінь перенасичення слини гідроксиапатитом впливає її реакція: зі зменшенням рН вона різко знижується. Перенасичення ротової рідини зберігається лише до рН = 6,0-6,2 (критичний рівень), що й зареєстровано нами після 6 місяців профілактики (рис. 3.2), а при подальшому підкисленні воно різко знижується, а, отже, перетворюється з ремінералізуючої в демінералізуючу рідину».

Отже, зростання пародонтального індексу (до 5,5 одиниць) та позитивна проба йодного числа (6,5 одиниць) засвідчує інтенсивний запальний процес тканин пародонту та тлі зсуву кислотно-основної рівноваги в бік слабкокислої концентрації  $\text{H}^+$  у ротовій рідині (ацидозу), що вказує на демінералізацію тканин зуба.

Водночас за умов перебігу хронічного генералізованого пародонтиту у пацієнтів під час загострення спостерігалася посилена еміграція лейкоцитів у

ротову порожнину, внаслідок чого в ротовій рідині зареєстровано близько 180 тис  $\pm$  7 клітин/мл (рис. 3.3). Водночас через 6 місяців після проведення терапевтичних заходів рівень емігруючих лейкоцитів у ротовій рідині знизився до 65 тис. кл/мл, проте даний показник все-таки виявлявся вищим за межі фізіологічних норм (рис. 3.3)



**Рис. 3.3. Кількість емігруючих лейкоцитів у ротовій рідині при запаленні тканин пародонту**

Еміграція лейкоцитів у ротову порожнину є об'єктивним критерієм, що відображає ступінь виразності запалення у яснах. Ясенна рідина є фізіологічним середовищем організму складного складу, що включає лейкоцити, злущені епітеліальні клітини, мікроорганізми, електроліти, білкові компоненти, ферменти та інші речовини [20].

Яснева рідина являє собою трансудат сироватки крові. Наявність лейкоцитів у ясенному жолобку має велике значення у фізіології порожнини рота, тому що ясенний жолобок є основним джерелом надходження лейкоцитів у слину. Еміграція лейкоцитів у ротову порожнину має віковий характер, оскільки у дітей до прорізування зубів лейкоцити в слині практично відсутні. Вони з'являються з початком прорізування зубів, а з прорізуванням всіх зубів еміграція досягає рівня еміграції дорослих лейкоцитів. У пізнішому віці із зменшенням кількості зубів кількість лейкоцитів у слині зменшується. У людей похилого віку з беззубою щелепою еміграція лейкоцитів значно знижена [11].

При інтактному пародонті у дорослих у ясенній рідині міститься 95-97% нейтрофілів, 1-2% лімфоцитів, 2-3% моноцитів. Серед мононуклеарних лейкоцитів 24% припадає на Т-лімфоцити та 58% – на В-лімфоцити. При запаленні відсоткове співвідношення нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів залишається без змін, але збільшується абсолютна кількість цих клітин. Збільшення числа лейкоцитів у ясенній рідині та слині перебуває у прямій залежності від ступеня вираженості запальної реакції у тканинах пародонту. Число лейкоцитів, що емігрували в порожнину рота, при хронічному запаленні в тканинах пародонту збільшується в 2 рази, а при загостренні процесу в 4 рази в порівнянні зі здоровими людьми. Погіршення гігієни ротової порожнини також сприяє збільшенню кількості лейкоцитів. Велике значення лейкоцитів ясенної рідини надається як джерелу лізосомальних ферментів (лізоцим, кисла та лужна фосфатази), які мають певне значення у патогенезі захворювань пародонту [40].

Лейкоцити у яснах представлені гранулоцитами і агранулоцитами. Нейтрофільні гранулоцити розглядають як провідні клітинні елементи, що забезпечують швидкі неспецифічні захисні реакції в ясна. Вони виявляються у власній пластинці, проте частина їх мігрує в епітелій, досягаючи його поверхні, і накопичуються в дуже великих кількостях в унікальній спеціалізованій ділянці – ясенній борозні.

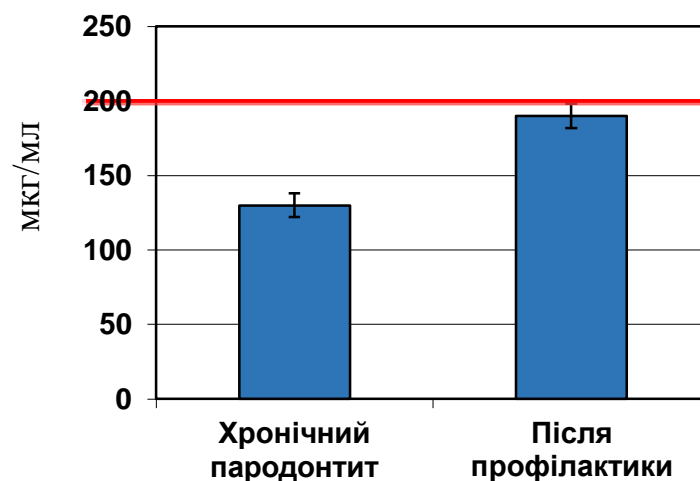
Залучення в запалені ясна цих клітин та їх накопичення поєднується з посиленою експресією в тканинах ясен ІЛ-8, ІЛ-1 $\alpha$ , ФНП- $\alpha$  та деяких адгезивних молекул, джерелами яких можуть бути, окрім макрофагів, фібробласти, епітеліальні клітини, а також самі нейтрофіли. Активовані нейтрофіли продукують ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1, ІЛ-8, завдяки чому вони можуть брати участь у регуляції імунних реакцій. У запаленій ясні вони експресують також поліфункціональний цитокін – фактор судинного ендотелію (VEGF), який відіграє важливу роль у процесах ангіогенезу, тканинної регенерації та запалення [7].

При хронічному генералізованому пародонтиті подібні зміни наростають, що погіршує міцелярні властивості слини, створює умови подальшої прогресу-

ючої втрати зубів, оскільки при цьому порушуються метаболічні процеси у тканинах пародонту. Водночас перебіг пародонтиту супроводжується значним ослабленням неспецифічного захисту ротової рідини. Наростання процесів пероксидного окислення ліпідів та зниження потужності антиоксидантного захисту створюють умови для розвитку оксидативного стресу.

На цьому фоні знижується здатність ротової рідини забезпечувати антибактеріальний захист, що призводить до подальшої втрати зубів, погіршує якість життя пацієнтів. За даних умов значну роль відіграють чинники місцевого захисту, як специфічної імунохімічної, так й неспецифічної резистентності. Система місцевих захисних представлена в ротовій порожнині, насамперед, ферментом лізоцимом.

Аналіз результатів клініко-біохімічних досліджень вказує, що вміст лізоциму в ротовій рідині пацієнтів, які страждають на хронічний генералізований пародонтит на тлі адентії різного ступеня, супроводжується значним зниженням, що становить в середньому 35 % (рис. 3.4). Це свідчить про значне пригнічення неспецифічної резистентності тканин порожнини рота, що неминуче призводить до послаблення здатності ротової рідини протистояти дії патогенних факторів.



**Рис. 3.4. Вміст лізоциму в ротовій рідині при запаленні тканин пародонту**

Антибактеріальні властивості ротової рідини багато в чому зумовлені присутністю в ній значних кількостей цього ферменту, бактерицидна дія якого зумовлена його здатністю гідролізувати глікозаміноглікани в полісахаридах

клітинних оболонок мікроорганізмів. Поряд з антибактеріальною, лізоцим проявляє й виражену імуномодуляторну активність.

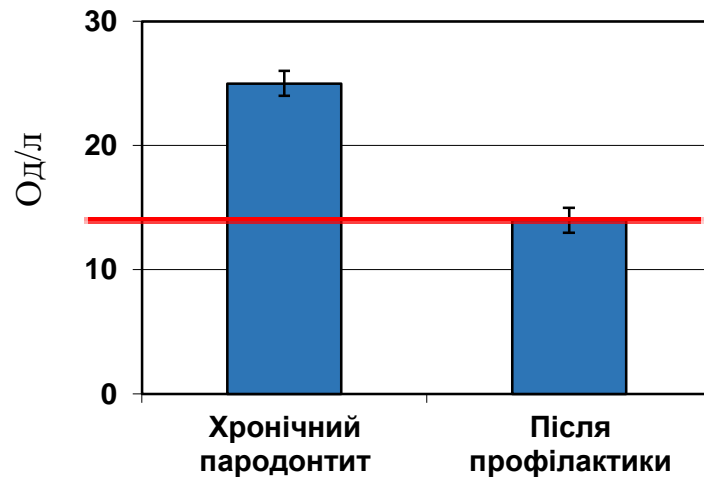
Лізоцим – білок з ензиматичною активністю та молекулярною масою близько 14 кДа, поліпептидний ланцюг якого складається з 129 амінокислотних залишків і згорнутий в компактну глобулу. Тривимірну конформацію поліпептидного ланцюга підтримують 4 дисульфідні зв'язки. Глобула лізоциму складається з двох частин: в одній містяться амінокислоти, що мають гідрофобні групи (лейцин, ізолейцин, триптофан), в іншій частині переважають амінокислоти з полярними групами (лізин, аргінін, аспартат) [34].

Джерелом лізоциму в ротовій рідині є слинні залози. Лізоцим синтезується епітеліальними клітинами проток слинних залоз. Зі змішаною слиною в ротову порожнину надходить приблизно 5,2 мкг лізоциму за 1 хвилину. Іншим джерелом лізоциму є нейтрофіли. Бактерицидна дія лізоциму полягає в тому, що він каталізує гідроліз  $\alpha$ -1,4-глікозидного зв'язку, що з'єднує N-ацетилглюкозамін з N-ацетилмурамовою кислотою в полісахаридах клітинної оболонки мікроорганізмів, що сприяє руйнуванню муреїну в стінці бактеріальної клітини [14].

Найбільш чутливі до лізоциму грампозитивні мікроорганізми та деякі віруси. Тому утворення лізоциму знижується при деяких видах захворювань ротової порожнини (стоматити, гінгівіти, пародонтити).

Ще одним результатом запальних процесів у тканинах пародонту хворих є зростання мікробного обсіменіння, про що свідчать результати визначення активності уреаз (рис. 3.5)

Уреаза в ротовій рідині має мікробне походження, отже, підвищена концентрація даного ферменту в ротовій рідині є наслідком обсіменіння ротової порожнини уреазопозитивною мікробіотою (актиноміцети, стафілококи, протеї, клібсієли та інші). Також відомо, що підвищений вміст уреаз в ротовій рідині робить внесок у залужнення середовища, що, в свою чергу, є фактором, що сприяє утворенню твердих зубних відкладень, та призводить або до розвитку, або до посилення перебігу запальних захворювань пародонту [37].



**Рис. 3.5. Активність уреазы в ротовій рідині при запаленні тканин пародонту**

Таким чином, визначення уреазної активності ротової рідини може бути використане для опосередкованого скринінгу обсіменіння ротової порожнини уреазопозитивною мікробіотою з метою обґрунтованого включення протимікробних засобів до комплексу заходів з профілактики утворення твердих зубних відкладень і, отже, запальних захворювань пародонту.

При санації ротової порожнини через 6 місяців профілактики були зняті явища запалення, проте клініко-біохімічні показники ротової рідини не досягали фізіологічних величин, що зумовлено порушенням цілісності зубних рядів. Застосування протезних конструкцій на цьому фоні супроводжувалося пригніченням швидкості салівації, посиленням зсуву реакції середовища в кислу сторону, зниженням вмісту лізоциму та активацією уреазы.

Тому ефективним способом, що характеризує стан метаболічних процесів у порожнині рота, є використання неінвазивного методу дослідження хімічного складу ротової рідини. Гомеостаз ротової порожнини значною мірою визначається складом і фізико-хімічними властивостями ротової рідини, відхилення біохімічних показників якої мають місце при різних стоматологічних захворюваннях. Лізоцим та уреазы об'єктивно відображають стан неспецифічної антибактеріальної резистентності ротової порожнини. Лізоцим, без сумніву, досить

об'єктивний та інформативний показник, він може бути діагностичним та прогностичним критерієм у клінічній практиці.

Проведений аналіз інформативності клініко-лабораторних показників дослідження дозволив обґрунтувати алгоритм тактики ведення пацієнтів з частковою відсутністю зубів, що підлягають поповненню знімними ортопедичними конструкціями на тлі генералізованого пародонтиту.

## ВИСНОВКИ

1. Зростання пародонтального індексу (до 5,5 одиниць) та позитивна проба йодного числа (6,5 одиниць) вказує на інтенсивний запальний процес тканин пародонту та тлі зсуву кислотно-основної рівноваги в бік слабкокислої концентрації  $H^+$  у ротовій рідині (ацидозу), що викликає демінералізацію тканин зуба.
2. Показано, що стадія загострення хронічного пародонтиту характеризується посиленням еміграції лейкоцитів у ротову порожнину та зниженням рівня лізоциму, що можна розглядати як об'єктивний критерій запальних процесів у яснах на тлі зниження неспецифічної антибактеріальної резистентності ротової порожнини.
3. За умов хронічного пародонтиту відбувається підвищення уреазної активності в ротовій рідині, що може бути використане для опосередкованого скринінгу обсіменіння ротової порожнини уреазопозитивною мікробіотою з метою обґрунтованого включення протимікробних засобів до комплексу заходів з профілактики утворення твердих зубних відкладень і, отже, запальних захворювань пародонту.