

DOI 10.31718/2077-1096.19.1.52

УДК 616.314.177.18-018.3-097.1:616.314-089.87]:616.379-008.64-092.9

Ганчев К.С.

ХАРАКТЕРИСТИКА СТАНУ ВРОДЖЕНОЇ ЛАНКИ МІСЦЕВОГО ІМУНІТЕТУ ТКАНИН ПАРОДОНТУ ЩУРІВ ПІСЛЯ ЕКСТРАКЦІЇ ЗУБУ НА ФОНІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ЗА ПОКАЗНИКАМИ ЕКСПРЕСІЇ CD 68

Запорізький державний медичний університет

Традиційно CD 68 використовується у якості високоспецифічного цитохімічного маркера для імунного фарбування моноцитів/макрофагів при гістохімічному аналізі тканин із запаленням, або пухлинним процесом. Тому метою дослідження було визначити особливості стану вродженої ланки місцевого імунітету тканин пародонту за показниками експресії CD68 в тканинах пародонту щурів із експериментальним стрептозотоциновим діабетом на 1-у, 7-му та 14-ту добу після екстракції першого нижнього моляру. Матеріали та методи дослідження. Дослідження були проведені на 120 щурах-самцях лінії Вістар, віком 8-10 місяців, розподілених на 8 груп по 15 тварин у кожній, а саме чотири контрольні «Контроль-0» - екстракція зубу не проводилась; «Контроль-1»; -7 та -14» групи щурів на 1-шу, 7-у та 14-у доби після екстракційного періоду; та 4 із експериментальним цукровим діабетом (моделювали введенням внутрішньоочеревинно стрептозотину (SIGMA Chemical, США) в дозі 50 мг/кг), на 21-у добу середній рівень глікемії у групах становив $22,65 \pm 0,88$ мм/л. Екстракцію зубу проводили під тіопенталовим наркозом (доза 40 мг/кг) з додатковою місцевою інфільтраційною анестезією препаратом «Убістезин» (ЗМ Дойчланд ГмБХ, Німеччина). Для дослідження показників експресії CD68 депарафіновані та регідратовані зрізи пародонту інкубували з моноклональними антитілами із первинними кролячими IgG до CD68 (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200 та вторинними мишачими IgG до повної молекули IgG кроля, кон'югованими з FITC (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200. Результати дослідження. Екстракція зубу щурам із нормальними показниками вуглеводного обміну призводить до розвитку класичного запального процесу, формуванню на 7 добу макрофагальної інфільтрації м'яких тканин пародонту та «затуханням» запалення після другого тижня. Експериментальний цукровий діабет сприяє формуванню «прихованого» запального процесу із розповсюдженою макрофагальною інфільтрацією м'яких тканин пародонту. На цьому фоні екстракція зубу незначно збільшує експресію CD 68, процес відбувається повільно та характеризується пролонгацією у віддаленому періоді.

Ключові слова: пародонт, екстракція зубу, цукровий діабет, експресія CD 68, щури

Дана робота є фрагментом НДР кафедри патологічної фізіології ЗДМУ на тему: «Механізми реакції тканин з різними регенераторними властивостями на uszkodження» (державний реєстраційний № 0116U005352).

Диференційний маркер CD 68 є високоглікозильованим глікопротеїном, що експресується у макрофагах та інших мононуклеарних фагоцитах. Традиційно CD 68 використовується у якості високо специфічного цитохімічного маркера для імунного фарбування моноцитів/макрофагів при гістохімічному аналізі тканин із запаленням, або пухлинним процесом. Клітинно-специфічна експресія CD68 та рівні його диференційованої експресії визначаються складною взаємодією між факторами транскрипції, її регуляторними елементами та епігенетичними факторами [1].

Експериментально доведено, що білок CD68 в основному розташований в ендосомальному/лізосомальному компартменті, але може швидко переміщуватися на поверхню клітини. Однак роль CD68 в якості рецептора «сміття» ще не доведена. Схоже, що CD68 не бере участі в зв'язуванні бактеріальних або вірусних патогенів при запальних або гуморальних імунних реакціях, хоча потенційно може бути залученим у процесинг/презентацію антигену. Вважають, що CD68 функціонально важливий в остеокластах, оскільки його делеція призводить до зниження здатності резорбції кістки [2]. Підтвердження цієї дії було доведено у експериментальних дослідженнях Хуе L. та співавт., які встановили, що імунопозитивні клітини CD68+ присутні в запальній інфільтрації ясен та приймають участь у руйнуванні альвеолярного відростка [3].

Більш того, із ними сьогодні асоціюють необоротну рецесію тканин пародонту при хронічних запальних захворюваннях. Її пов'язують із порушенням регуляції імунної активації та продукцією ферментів, що руйнують тканини [4].

Останні роки дослідження привели імунологів до визначення неоднорідності популяції макрофагів. Були виділені три основних клітинних субпопуляції: макрофаги M1, M2 та Mox. В залежності від фенотипу та профілю експресії генів вони приймають участь в процесах запалення, відновлення пошкоджених тканин, захисту організму від окисного стресу. Саме від того, які з підтипів макрофагів домінують у регіоні запалення реалізуються механізми запального процесу: або «руйнівника» M1, який активно пошкоджує та перетравлює все, що зустрінеться на його шляху; або «будівельника та лікаря» M2. Характер активації макрофагів не є жорстко детермінованим і стабільним, їх фенотип визначається сигналами мікрооточення. Показана можливість трансформації M1 фенотипу в M2 при зміні спектра стимулюючих цитокінів. Одна з відмінностей між M2 і M1 полягає в тому, що в M2 продуктами метаболізму аргініну є орнітин і поліаміни, тоді як у M1 – оксид азоту та цитрулін

[5]. Доведено, що паралельне визначення показників експресії CD68 та індукцибельної ізоформи ферменту синтази оксиду азоту (iNOS) дає можливість оцінити поляризацію макрофагів у бік «класично» активованих M1 із значним утворення фактору некрозу пухлин- α , оксиду азоту та інших прозапальних цитокінів та медіаторів [6]. Вважають, що саме баланс експресії CD68+ та iNOS характеризує особливості поляризації та диференціювання макрофагів у різні функціональні типи M1 або M2 [5, 6, 7].

Раніше проведені дослідження визначення особливостей експресії індукцибельної ізоформи ферменту синтази оксиду азоту (iNOS) показали, що видалення зубу щурів із експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД) призводить до «лавиноподібного» збільшення вмісту та концентрації iNOS в тканинах пародонту з 1-ї до 7-ї доби після екстракційного періоду із підтриманням високої експресії ізоформи та її розповсюдженості у пародонті після двох тижнів [8].

Саме ці встановлені факти особливостей експресії iNOS у тканинах пародонту щурів із ЕЦД на фоні екстракції зубу та зацікавленість властивостями CD68-імунопозитивних клітин, що були описані іншими науковцями, особливо їх здатність підтримувати запальний процес та активувати резорбцію кісткової тканини, сприяли рішення про визначення показників експресії CD68 в тканинах пародонту для оцінки стану вродженої ланки місцевого імунітету тканин пародонту у різні терміни після екстракційного періоду на фоні цукрового діабету.

Мета дослідження

Визначити особливості стану вродженої ланки місцевого імунітету тканин пародонту за показниками експресії CD68 в тканинах пародонту щурів із експериментальним стрептозототинним діабетом на 1-у, 7-му та 14-ту добу після екстракції першого нижнього моляру.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження були проведені на 120 щурів-самців лінії Вістар, віком 8-10 місяців, розподілених на 8 груп по 15 тварин у кожній, а саме чотири контрольні «Контроль-0» - екстракція зубу не проводилась; «Контроль-1; -7 та -14» групи щурів на 1-шу, 7-у та 14-у доби після екстракційного періоду; та 4 із ЕЦД (моделювали введенням внутрішньоочеревинно стрептозототину (SIGMA Chemical, США) в дозі 50 мг/кг), на 21-у добу середній рівень глікемії у групах становив $22,65 \pm 0,88$ мМ/л. Екстракцію зубу проводили під тіопенталовим наркозом (доза 40 мг/кг) з додатковою місцевою інфільтраційною анестезією препаратом «Убістезин» (ЗМ Дойчланд ГмБХ, Німеччина).

Експериментальна частина дослідження виконана у відповідності з національними «Спільними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджуються з

директивою Ради 2010/63EU Європейського парламенту і Ради від 22 вересня 2010 року по захисту тварин, що використовують для наукових цілей (Council Directive 2010/63EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes). Протокол дослідження погоджено з локальним етичним комітетом.

Об'єктом дослідження у щурів була тканина пародонту нижньої щелепи праворуч. Після стандартної гістологічної підготовки фрагментів пародонту їх фіксували у парапластових блоках. На ротаційному мікротомі Microm-325 (Microm Corp., Germany) готували серійні зрізи тканин пародонту товщиною 5 мкм. Для дослідження показників експресії CD68 депарафіновані та регідратовані зрізи пародонту інкубували з моноклональними антитілами із первинними кролячими IgG до CD68 (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200 та вторинними мишачими IgG до повної молекули IgG кроля, кон'югованими з FITC (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200. Вивчення зрізів пародонту, проводили в ультрафіолетовому спектрі збудження 390 нм за допомогою світлофільтру 38HE з високою емісією (Carl Zeiss, Germany) на мікроскопі AxioScope (Carl Zeiss, Germany).

В ході автоматичного оцифрування зображення визначали: відносну площу матеріалу, імунореактивного (ПІМ) до CD68 (%) у площі «маски» (100%), концентрацію і вміст CD68 в питомій площі, яку займає імунореактивний матеріал до CD68 (ОдІФ). Дослідженню підлягали не менше ніж 50 полів зору з кожної серії.

Всі статистичні обчислення проводилися в табличному процесорі Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corp., USA). Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Для виявлення достовірності відмінностей результатів досліджень у експериментальних і контрольних груп щурів проводили обчислення коефіцієнту Ст'юдента (t), після чого визначали ймовірність відмінності вибірок (p) і довірчий інтервал середньої за таблицями розподілу Ст'юдента. Достовірними вважали значення, для яких $p_{St} < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Візуальний огляд гістологічних зрізів м'яких тканин пародонту щурів контрольних груп показав, що у інтактному пародонті практично відсутні активовані макрофаги, а «світіння» IPM до CD 68 виявляється на поодиноких клітинах, які розташовані поруч із судинами.

Аналіз цифрових показників експресії CD 68 у пародонті щурів групи «Контроль-1» через одну добу після видалення зубу показав, що вміст та концентрація IPM достовірно не змінювалися, тоді як відносна площа IPM до CD 68 ставала більшою на 24 % (табл. 1).

Таблиця 1
Показники експресії CD 68 у парадонті щурів експериментальних груп (M±m)

Експериментальні групи, n=15		Вміст IPM до CD 68, ОД _т	Концентрація IPM до CD 68, ОД _т /мкм ²	Питома площа IPM до CD 68, %
Без екстракції	Контроль-0	109,23 ± 5,84	12,05 ± 0,52	48,62 ± 1,41
	Діабет-0	275,34 ± 12,55 ²	35,21 ± 0,75 ²	62,05 ± 1,19 ²
1-доба після екстракції	Контроль-1	121,34 ± 6,65	11,75 ± 0,61	60,34 ± 1,75 ¹
	Діабет-1	303,87 ± 15,97 ²	48,20 ± 2,71 ^{2,3}	68,13 ± 2,44 ^{2,3}
7-доба після екстракції	Контроль-7	157,22 ± 7,34 ¹	16,17 ± 0,84 ¹	59,29 ± 1,85
	Діабет-7	344,13 ± 11,65 ^{2,3}	44,30 ± 1,78 ²	65,05 ± 1,02 ²
14-доба після екстракції	Контроль-14	135,31 ± 7,75 ¹	13,41 ± 0,74 ¹	55,13 ± 1,42
	Діабет-14	357,66 ± 13,28 ²	49,17 ± 2,93 ²	59,08 ± 0,97 ^{2,3}

Примітка 1. ⁽¹⁾ – достовірна різниця показників контрольних груп ($p_{st} < 0,05$) відносно відповідних показників контрольної групи із попереднім строком екстракції.

Примітка 2. ⁽²⁾ – достовірна різниця показників груп із ЕЦД ($p_{st} < 0,05$) відносно показників контрольної групи відповідного строку екстракції.

Примітка 3. ⁽³⁾ – достовірна різниця показників груп із експериментальним цукровим діабетом ($p_{st} < 0,05$) відносно показників щурів із ЕЦД попереднього строку екстракції.

На 7-му добу після екстракційного періоду у щурів групи «Контроль-7» відмічалось збільшення вмісту та концентрації IPM до CD 68 на 29,5 % та 37,6 %, відповідно. При цьому відносна площа, яку займали CD 68+ імунопозитивні клітини залишалася незмінною у порівнянні із відповідним показником групи «Контроль-1» (див. табл. 1).

Через два тижні після екстракції зубу у щурів групи «Контроль-14» було відмічено достовірне зменшення вмісту та концентрації IPM до CD 68 на 16 % та 20,5 %, відповідно. Відносна площа IPM до CD 68 достовірно не відрізнялася від показника групи «Контроль-7». Варто відмітити, що досліджувані показники експресії CD 68 у тварин на другому тижні післяекстракційного періоду залишалися достовірно вищими, ніж у груп тварин без видалення зубу «Контроль-0». При цьому вміст IPM до CD 68 був вищим на 23,8 %, питома площа – на 13,3 % (див. табл. 1).

Встановлена динаміка експресії IPM до CD 68 у тварин контрольних груп після видалення зубу показує, що значна макрофагальна інфільтрація тканин пародонту відбувається тільки через тиждень після пошкодження, за два тижні кількісні показники починають знижуватися через «затухання» запальної реакції. Але, більш високий вміст та питома площа розподілу IPM до CD 68 наприкінці дослідження свідчать про подальші реконструктивні процеси, що відбуваються у парадонті.

Візуальна діагностика експресії CD 68 у парадонті щурів із ЕЦД показала, що у них спостерігається вихідна висока інфільтрація макрофагами м'яких тканин, що свідчить про наявність макрофагальної інфільтрації через прихований запальний процес.

При цьому всі цифрові показники експресії білку CD 68 значно перевищували порівняльні значення групи щурів «Контроль-0». Так, у них вміст, концентрація та питома площа IPM до CD 68 були у 2,52 рази, 2,92 рази та на 27,6 % відповідно, вищими (див. табл. 1).

Екстракція зубу щурам із ЕЦД на 1-шу добу постекстракційного періоду не дуже змінила кар-

тину експресії білку CD 68 у тканинах пародонту. При цьому його вміст достовірно не змінився, у порівнянні із групою щурів «Діабет-0», однак, концентрація збільшилася на 36,8 %, питома площа – на 9,7 % (див. табл. 1).

7-ма доба постекстракційного періоду у щурів із ЕЦД характеризувалася збільшенням на 13,2 % вмісту IPM до CD 68, однак, його концентрація та питома площа, у порівнянні із попереднім терміном, достовірно не змінилися (див. табл. 1).

На 14-ту добу після екстракції зубу тваринам із ЕЦД вміст та концентрація білку CD 68 достовірно не відрізнялися від показників групи «Діабет-7», тоді як питома площа достовірно збільшилася на 6,2 % (див. табл. 1).

За результатами проведеного дослідження експресії білку CD 68 у тканинах пародонту щурів експериментальних груп можна констатувати, що у них хірургічна маніпуляція – екстракція зубу - призводить до розвитку класичного запального процесу, що супроводжується у віддаленому періоді (7 доба) макрофагальною інфільтрацією м'яких тканин пародонту із «затуханням» цього процесу наприкінці другого тижня. Слід зазначити, що на 14 добу запальна реакція не завершувалася через подальші реконструктивні процеси у парадонті. Подібні результати були описані в роботі de Molon R.S. та співавт., які при експериментальному моделюванні резорбції кісткової тканини пародонту показали, що запальний процес та резорбція кісток характеризується двома різними фазами: гостра (0-14 днів), з вираженим запаленням та втратою альвеолярної кістки та хронічна фаза (14-21 доба) [9].

На відміну, дослідження стан вродженої ланки місцевого імунітету тканин пародонту щурів із ЕЦД показало наявність «прихованого» запального процесу із розповсюдженою макрофагальною інфільтрацією м'яких тканин пародонту. Проведення екстракції зубу на цьому фоні не призводить до значного додаткового збільшення експресії CD 68, процес відбувається більш повільно, але характеризується його пролонгацією у віддаленому періоді. Сьогодні ці результати мають численні підтвердження. Так, у дослі-

дженні Хіао Е. та співавторів доведено, що цукровий діабет є фактором ризику пародонтиту, запальної кісткової резорбції та найчастішою причиною втрати зубів. Вони показали, що ЦД викликає порушення балансу ротової бактеріальної композиції мікробіоти та сприяє підтриманню хронічного запального процесу [10].

Висновки

1. Екстракція зуба щурам із нормальними показниками вуглеводного обміну призводить до розвитку класичного запального процесу, формуванню на 7 добу макрофагальної інфільтрації м'яких тканин пародонту та «затуханням» запалення після другого тижня.

2. ЕЦД сприяє формуванню «прихованого» запального процесу із розповсюдженою макрофагальною інфільтрацією м'яких тканин пародонту. На цьому фоні екстракція зуба незначного збільшує експресію CD 68, процес відбувається повільно, але характеризується пролонгацією у віддаленому періоді.

Література

1. Chistiakov D, Killingsworth M, Myasoedova V, Orekhov A, Bobryshev Y. CD68/macrosialin: not just a histochemical marker. *Laboratory Investigation*. 2016;97(1):4-13.

2. Lohonina A. Morphofunktsional'naya harakteristika makrofavog embriional'nogo i monocitarnogo proishojdenija [Morphofunctional characteristics of macrophages of embryonic and monocytic origin]. *Geni&Kletki*. 2018;13(2):56-62. (Russian)

3. Xue L, Su L, Zhao L, Li J, Du Y, Yu X. Cyclophilin A increases CD68+ cell infiltration in rat experimental periodontitis. *Journal of Molecular Histology*. 2018;49(2):157-164.

4. Iglesias-Linares A, Hartsfield J. Cellular and Molecular Pathways Leading to External Root Resorption. *Journal of Dental Research*. 2016;96(2):145-152.

5. Björnfort Holmström S, Clark R, Zwicker S, Bureik D, Kvedaraitė E, Bernasconi E et al. Gingival Tissue Inflammation Promotes Increased Matrix Metalloproteinase-12 Production by CD200 Rlow Monocyte-Derived Cells in Periodontitis. *The Journal of Immunology*. 2017;199(12):4023-4035.

6. Wang J, Li H, Li B, Gong Q, Chen X, Wang Q. Co-culture of bone marrow stem cells and macrophages indicates intermediate mechanism between local inflammation and innate immune system in diabetic periodontitis. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2016;12(2):567-572.

7. Zuo J, Zhang L, Zeng W. Expression of inducible nitric oxide synthase and macrophage in human placenta of pregnancy induced hypertension syndrome. *Zhonghua Fu Chan KeZaZhi*. 2002;37(6):331-4.

8. Ganchev K, Abramov A, Grekova T. Inducibel'na sintaza mooksidu azotu - ii rol' u formuvanni postektaktsijnih uskladnen' pri experimental'nomu tsukrovomu diabeti. Aktual'ni problemi suchasnoi meditsini: Vistnik Ukrain's'koi medichnoi stomatologichnoi akademii. 2017;17(4 (60) p.2):29-32. (Ukrainian)

9. De Molon R, Park C, Jin Q, Sugai J, Cirelli J. Characterization of ligature-induced experimental periodontitis. *Microscopy Research and Technique*. 2018;81(12):1412-21.

10. Xiao E, Mattos M, Vieira G, Chen S, Corrêa J, Wu Y et al. Diabetes Enhances IL-17 Expression and Alters the Oral Microbiome to Increase Its Pathogenicity. *Cell Host & Microbe*. 2017;22(1):120-8.

Реферат

ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ ВРОЖДЕННОГО ЗВЕНА МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА КРЫС ПОСЛЕ ЭКСТРАКЦИИ ЗУБА НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ ЭКСПРЕССИИ CD 68
Ганчев К.С.

Ключевые слова: пародонт, экстракция зуба, сахарный диабет, экспрессия CD 68, крысы

Традиционно CD 68 используется в качестве высоко специфического цитохимического маркера для иммунного окрашивания моноцитов/макрофагов при гистохимическом анализе тканей с воспалением или опухолевым процессом. Поэтому целью исследования было определить особенности состояния врожденного звена местного иммунитета тканей пародонта по показателям экспрессии CD68 в тканях пародонта крыс с экспериментальным стрептозотоциновым диабетом на 1-е, 7-е и 14-е сутки после экстракции первого нижнего моляра. Материалы и методы исследования. Исследования были проведены на 120 крысах-самцах линии Вистар в возрасте 8-10 месяцев, распределенных на 8 групп по 15 животных в каждой, а именно четыре контрольных «Контроль-0» - экстракция зуба не проводилась; «Контроль-1; -7 и -14 » группы крыс на 1-е, 7-е и 14-е сутки после экстракционного периода; и четыре соответствующие группы с экспериментальным сахарным диабетом (моделировали введением внутрибрюшинно стрептозотина (SIGMA Chemical, США) в дозе 50 мг/кг), на 21-е сутки диабета средний уровень гликемии в группах составил 22,65±0,88 мм/л. Экстракцию зуба проводили под тиопенталовым наркозом (доза 40 мг/кг) с дополнительной местной инфильтрационной анестезией препаратом «Убистезин» (3М Дойчланд ГмбХ, Германия). Для исследования показателей экспрессии CD68 депарафинированные и регидратированные срезы пародонта инкубировали с первичными моноклональными антителами кроля IgG к CD68 (Santa Cruz Biotechnology, USA) в разведении 1:200 и вторичными мышными IgG к полной молекуле IgG кроля, конъюгированными с FITC (Santa Cruz Biotechnology, USA) в разведении 1:200. Результаты исследования. Экстракция зуба крысам с нормальными показателями углеводного обмена приводит к развитию классического воспалительного процесса, формированию на 7 сутки макрофагальной инфильтрации мягких тканей пародонта и «затуханием» воспаления после второй недели. Экспериментальный сахарный диабет способствует формированию «скрытого» воспалительного процесса с распространенной макрофагальной инфильтрацией мягких тканей пародонта. На этом фоне экстракция зуба незначительно увеличивает экспрессию CD 68, процесс медленно прогрессирует, но характеризуется пролонгацией в отдаленном периоде.

Summary

CHARACTERISTIC OF INNATE COMPONENT OF LOCAL IMMUNITY OF IN PERIODONTIUM TISSUES OF RATS AFTER TOOTH EXTRACTION IN DIABETES MELLITUS BY CD 68 EXPRESSION INDICES

Hanchev K. S.

Key words: periodontium, tooth extraction, diabetes mellitus, CD 68 expression, rats.

CD 68 is conventionally used as a highly specific cytochemical marker for monocytes / macrophages immune staining during histochemical analysis of tissues with suspected inflammatory or timorous process.

Therefore, the aim of this study was to evaluate the peculiarities of the status of an innate component of local immunity in the periodontium tissues by using CD68 expression indices in rats with modelled streptozotocin-induced diabetes on the 1st, 7th and 14th days after extraction of the first lower molar. Materials and methods. Research was conducted on 120 Wistar male rats aged 8-10 months, divided into 8 groups of 15 animals in each. There were four control groups "Control-0", for which no tooth extraction was performed on; "Control-1; -7 and -14" groups involved the rats, whose parameters were registered on the 1st, 7th and 14th day after the extraction; and four relevant groups with modelled diabetes mellitus (simulated by intraperitoneal introduction of streptozotocin (SIGMA Chemical, the USA) in a dose of 50 mg/kg), on the 21st day of diabetes, the average glycemic level in the groups was 22.65 ± 0.88 mM/L. The tooth extraction was performed under thiopental anaesthesia (in a dose 40 mg / kg) with additional local infiltration anaesthesia using "Ubisthesin" (3M Deutschland GmbH, Germany). In order to study CD68 expression indices, dewaxed and rehydrated periodontium cross sections were incubated with the monoclonal antibodies: primary rabbit IgG to CD68 (Santa Cruz Biotechnology, the USA) using 1:200 dilution and secondary mouse IgG to the complete molecule of rabbit IgG conjugated with FITC (Santa Cruz Biotechnology) using 1:200 dilution. Results. The tooth extraction in rats with normal values of carbohydrate metabolism leads to the development of inflammation, macrophage infiltration in periodontal soft tissues on the 7th day, and inflammation "fading" following the second week. Modelled diabetes mellitus contributes to the formation of a "hidden" inflammation with the extended macrophage infiltration in the periodontal soft tissues. Thus, in diabetes mellitus, the tooth extraction slightly increases the expression of CD 68, the process slowly progresses, but is characterized by prolongation in the long-term period.

DOI 10.31718/2077-1096.19.1.56

УДК 616.314.17+611.018.2:599.323.4

Єлінська А.М., Костенко В.О.

ВПЛИВ ВОДОРОЗЧИННОЇ ФОРМИ КВЕРЦЕТИНУ НА ДЕЗІНТЕГРАЦІЮ ОРГАНІЧНОГО МАТРИКСУ ПАРОДОНТА ЩУРІВ ЗА УМОВ СИСТЕМНОГО ВВЕДЕННЯ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ *SALMONELLA TYPHI*

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

*В експерименті на 30 білих щурах досліджено вплив водорозчинної форми кверцетину на колагеноліз і деполімеризацію протеогліканів та глікопротеїнів м'яких і кісткової тканин пародонта щурів за умов системного введення ліпополісахариду *S. typhi*. Тварини було розподілено на 3 групи: 1-ша – інтактні тварини, 2-га – після системного введення ліпополісахариду *S. typhi* (пірогенал), 3-тя – тваринам внутрішньоочередово вводили водорозчинний комплекс кверцетину з полівінілпіролідом (корвітин) у дозі 500 мг/кг (10 мг/кг у перерахунку на кверцетин) раз на 3 доби, починаючи з 30-ї доби експерименту. Останній вводили в дозі 0,4 мг/кг маси протягом 1-го тижня 3 рази, протягом наступних 7-ми тижнів – 1 раз у тиждень. Колагеноліз оцінювали за концентрацією вільного оксипроліну, рівень деполімеризації протеогліканів і глікопротеїнів – за вмістом глікозаміногліканів (ГАГ) та N-ацетилнейрамінової кислоти (NANA) відповідно. Введення кверцетину за умов експерименту вірогідно зменшувало у м'яких і кістковій тканинах пародонта концентрацію вільного оксипроліну на 27,3 та 26,7%, ГАГ – на 36,3 та 39,9%, NANA – на 17,6 та 46,8% відповідно порівняно зі значеннями 2-ї групи. Коефіцієнт оголення коренів молярів на 26,9% поступався результату щурів, яким вводили ліпополісахарид *S. typhi*. Зроблено висновок, що застосування кверцетину на тлі системного введення ліпополісахариду суттєво зменшує деполімеризацію компонентів органічного матриксу м'яких і кісткової тканин пародонта (колагену, протеогліканів та сіалоглікопротеїнів), обмежує резорбцію альвеолярного відростка щелеп.*

Ключові слова: водорозчинна форма кверцетину, системна запальна відповідь, сполучна тканини, колагеноліз, протеоглікани, глікопротеїни, пародонт.

Робота є фрагментом НДР «Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системного генезу» (№ держреєстрації 0114U004941).

Відомо, що окисно-нітрозативний стрес і дезорганізація сполучної тканини є важливими ланками патогенезу хронічного пародонтиту, що розвивається на тлі ліпополісахарид (ЛПС) - індукованої системної запальної відповіді [1, 2]. Перспективним засобом корекції цих процесів у різних тканинах є природний флавоноїд кверце-

тин, здатний виконувати функції скевенджера активних форм оксигену та нітрогену, інгібітора низки ферментів, що забезпечують катаболізм фосфоліпідів (фосфоліпази, ліпоксигенази, циклооксигенази) [3]. У експерименті на білих щурах показано, що застосування оральних гелів, що містять кверцетин, при локальній аплікації ЛПС