

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

ГАСЮК НАТАЛІЯ ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 611.31.+616.31.- 002

**ЦИТОЛОГІЧНІ І ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СЛИЗОВОЇ
ОБОЛОНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА ЛЮДИНИ В НОРМІ ТА ПРИ
ЗАПАЛЬНОМУ ПРОЦЕСІ**

14.03.09 – гістологія, цитологія, ембріологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Київ – 2015

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вищому державному навчальному закладі України «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України (м. Полтава).

Науковий консультант:

доктор медичних наук, професор **Єрошенко Галина Анатоліївна**, Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України (м. Полтава), професор кафедри гістології, цитології та ембріології».

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор **Гунас Ігор Валерійович**, виконавчий директор Міжнародної академії інтегративної антропології (м. Вінниця);

доктор медичних наук, професор **Масловський Сергій Юрійович**, Харківський національний медичний університет МОЗ України, професор кафедри гістології та ембріології;

доктор біологічних наук, професор **Волков Костянтин Степанович**, Державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», завідувач кафедри гістології, цитології, ембріології.

Захист відбудеться «_____» _____ 2016 року о _____ на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.003.06 при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця МОЗ України (03057, Україна, м. Київ, проспект Перемоги 34, морфологічний корпус).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України (03057, Україна, м. Київ, вул. Зоологічна 1).

Автореферат розісланий «_____» _____ 2015 р.

**Вчений секретар спеціалізованої
вченої ради,
кандидат медичних наук, доцент**

І.В. Дзевульська

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. На сьогодні запальні та запально-дистрофічні захворювання тканин пародонта і слизової оболонки порожнини рота (СОПР) домінують у загальній структурі патологічних процесів вказаної анатомічної локалізації (Банченко Г.В., 2003; Kinane D., Bouchard P., 2008; Барер Г.М., 2010; Данилевський М.Ф. та співав., 2010).

Ефективність сучасних підходів до терапії генералізованого пародонтиту (ГП) знижується у результаті зростаючої резистентності мікроорганізмів до лікарських засобів та безпосередньої участі вірулентних форм мікроорганізмів у патогенезі (Walker C.V., 2000; Григорьян А.С., Грудянов А.И., 2004; Vitkov L.V., 2005; Петрушанко Т.О. та співав., 2009; Борисенко А.В. та співавт., 2010).

Відсутність позитивної динаміки внаслідок застосування традиційної терапії дає поштовх науковцям до доповнення арсеналу традиційних методів обстеження осіб даного контингенту більш специфічними та індивідуалізованими. Хронічне запалення тканин пародонта супроводжується різким підвищенням рівня прозапальних цитокінів, інтерлейкіну-1 β , туморнекротичного фактора- α (TNF- α), активності лактатдегідрогенази, аспаратамінотрансферази, супероксиддисмутази (Park E.J. et al., 2010).

C-реактивний протеїн, TNF- α , підвищений рівень лейкоцитів крові можуть слугувати незалежними факторами ризику виникнення атеросклерозу, стенокардії (Armitage G.C., 2000; Diomedè M. 2006; Talbert J., 2006; Oikarinen K. et al., 2009; Ніколішин А.К., Бойченко О.М., 2014). Їх вивільнення при загостренні інфекційного процесу ініціює каскад біохімічних реакцій, що є безпосередньою причиною пошкодження ендотелію ендокарда і судин (Buhlin K. et al., 2009; Gaetti-Jardim E.J. et al., 2011).

Напрацювання останніх років дали можливість стверджувати, що більшість запальних захворювань тканин пародонта є багатофакторними із генетичним компонентом (Kornman K.S. et al., 2008; Schulz S. et al., 2011). У патогенезі генетичного фактора лежить варіативність генів чи їх поліморфізм (Karimbux N.Y. et al., 2012).

Проте, відсутність чітких цитологічних показників інтактною СОПР у віковому та гендерному аспектах унеможливорює розробку критеріїв прогнозування розвитку захворювань вказаної анатомічної локалізації. Останнє свідчить про актуальність вивчення цих питань і обумовлює необхідність дослідження ролі генетичного компонента у виникненні та перебігу ГП на основі морфофункціональних відмінностей клітинного складу СОПР в гендерному аспекті. Потребує новітніх даних гіпотеза щодо єдності генетичної детермінованості та схильності до запально-дистрофічних захворювань, які розвиваються у тканинах пародонта, що дасть можливість визначати пускові

механізми виникнення хронічного системного запалення на тлі патології тканин пародонта.

Таким чином, вивчення змін СОПР за умов наявності запально-дистрофічного процесу в тканинах пародонта в аспекті диференціації епітеліальних клітин СОПР та генетично обумовлених чинників розвитку ГП є актуальним та перспективним науковим напрямком.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом проектів науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава) «Роль запальних захворювань зубощелепного апарату в розвитку хвороб, пов'язаних із системним запаленням», номер державної реєстрації №0112U0011538, та «Комплексне дослідження генетично обумовлених особливостей NF-κB – опосередкованої сигнальної трансдукції, що визначає розвиток хронічного системного запалення, у хворих на метаболічний синдром та цукровий діабет 2 типу» номер державної реєстрації №0111U001774. Авторка є співвиконавцем зазначених наукових проектів.

Тема дисертації затверджена на засіданнях Проблемної комісії МОЗ і НАМН України «Морфологія людини» при Національному медичному університеті ім. О.О. Богомольця (протокол №16 від 14.05.2012 року) та Вченої ради ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» (протокол №5 від 20.06.2012 року).

Мета дослідження. Визначення цитологічних закономірностей диференціювання епітеліальних клітин слизової оболонки порожнини рота в нормі та при генералізованому пародонтиті, а також з'ясування генетично обумовлених чинників виникнення запального процесу тканин пародонта.

Для реалізації поставленої мети необхідно вирішити наступні завдання:

1. Виявити зміни кількісних та якісних параметрів букальних та ясенних епітеліоцитів у жінок впродовж оваріально-менструального циклу.
2. Визначити відсоткове співвідношення різних класів букальних та ясенних епітеліоцитів у жінок в динаміці оваріально-менструального циклу.
3. Встановити наявність кореляційних зв'язків між змінами кількісних показників епітеліоцитів слизової оболонки порожнини рота у жінок впродовж оваріально-менструального циклу.
4. Визначити відсоткове співвідношення різних класів букальних та ясенних епітеліоцитів у осіб чоловічої статі.
5. Вивчити особливості гістофункціональної організації ясенної борозни в нормі та при генералізованому пародонтиті.
6. Дослідити розподіл поліморфних варіантів гену транскрипційного фактора NF-κB1 (-94Ins/Del ATTG) у хворих на генералізований пародонтит.

7. Встановити роль поліморфізму транскрипційного фактора NF-κB1 (-94Ins/Del ATTG) у патогенезі генералізованого пародонтиту.

8. Встановити прогностичні критерії розвитку генералізованого пародонтиту на основі поліморфізму транскрипційного фактора NF-κB1 (-94Ins/Del ATTG) у осіб із здоровим пародонтом.

9. Визначити відсоткове співвідношення різних класів букальних епітеліоцитів при генералізованому пародонтиті.

10. Розробити концепцію впливу вогнища пародонтальної інфекції на слизову оболонку порожнини рота.

Об'єкт дослідження – характеристика перебігу процесу диференціації епітелію слизової оболонки порожнини рота в нормі та зміни, що ініціюються наявністю запального процесу в тканинах пародонта.

Предмет дослідження – цитологічні, гістологічні, ультраструктурні, імуногістохімічні особливості будови слизової оболонки порожнини рота у нормі та при генералізованому пародонтиті.

Методи дослідження: цитологічний – для вивчення клітинного складу СОПР; цитохімічний – для визначення класової належності епітеліоцитів та їх енергетичного потенціалу; гістологічний – для гістофункціональної характеристики структурних змін у компонентах тканин ясен в нормі та при ГП; метод серійних напівтонких зрізів – для отримання цілісної інформації про орган, що вивчається; електронномікроскопічний – для визначення ультраструктурної організації клітин; гістохімічний – для визначення вмісту і співвідношення в епітеліальних клітинах хромotropних речовин, що дають реакцію метахромазії; імуногістохімічний – для ідентифікації структурних елементів, рецепторів та продуктів синтезу клітин; каріометричний – для визначення кількісних параметрів ядер епітеліоцитів; молекулярно-генетичний – для визначення генетично обумовлених чинників ризику виникнення та розвитку ГП залежно від поліморфізму транскрипційного фактора (ТФ) NF-κB1; методи варіаційної статистики – для обґрунтування об'єктивності одержаних результатів і визначення розвитку основних тенденцій реактивних змін у епітеліальному та сполучнотканинному компонентах ясен та СОПР; метод кореляційного аналізу – для встановлення зв'язків між змінними параметрами, визначеними при цитологічному та молекулярно-генетичному дослідженнях; метод популяційної статистики – для характеристики розподілу генотипів поліморфних варіантів транскрипційного фактора ТФ NF-κB1.

Наукова новизна отриманих результатів. У результаті комплексних морфологічних досліджень отримані нові наукові дані стосовно закономірностей диференціації епітеліальних клітин СОПР в нормі та при ГП за умови генетично зумовлених патогенетичних механізмів виникнення даної нозології в осіб молодого віку.

Встановлені кількісні відсоткові співвідношення різних класів ясенних та букальних епітеліоцитів у гендерному аспекті. Науково обґрунтовані морфологічні розбіжності у процесах диференціації ясенного та букального епітелію в нормі. Визначено кількісні цитологічні критерії перебудови клітинного складу ясенного та букального епітелію в динаміці менструального циклу та представлено їх якісні характеристики. За результатами власних досліджень визначено, що в динаміці менструального циклу в цитограмах ясен та щоки відмічається «епітеліальний зсув» у сторону термінальної стадії диференціації епітеліоцитів, із дотриманням чіткої анатомічної регіонарності та періоду відновлення епітелію. Встановлено і візуалізовано якісні зміни епітеліоцитів СОПР впродовж менструального циклу, які більш виражені у ясенних епітеліоцитах та спостерігаються в середній лютеїновій фазі у вигляді пікнотично змінених та фрагментованих ядер клітин і клітин, тинкторіальні властивості яких відповідають «човноподібним» епітеліоцитам піхви.

Науково обґрунтована наявність кореляційних зв'язків між показниками кількісних змін букальних та ясенних епітеліоцитів в динаміці менструального циклу, що констатує факт більшої чутливості до гормональної перебудови впродовж менструального циклу ясенних епітеліоцитів.

На підставі отриманих даних уперше встановлено, що в ясенній борозні функціонують два рівні місцевого захисту: внутрішньоепітеліальний та сполучнотканинний. При цьому, перший забезпечується секреторними і фагоцитарними функціями інтраепітеліальних нейтрофільних гранулоцитів, другий – сулькулярно-асоційованою лімфоїдною тканиною.

На підставі аналізу клітинного складу пародонтальних кишень при пародонтиті, в залежності від клінічного перебігу ГП, запропоновано діагностичні критерії вірогідності загострень.

За допомогою імуногістохімічного дослідження визначено клітинний склад інфільтратів власної пластинки ясен при ГП. На основі кореляційного аналізу вперше запропоновано систематизація ГП на «стабільний», «умовно-стабільний» та «прогресуючий».

Доведено, що розвиток ГП у осіб молодого віку має генетично зумовлений характер, що розкриває нові перспективи застосування методів молекулярно-генетичної медицини не лише в цитології, гістології та патоморфології, а також у стоматології та загальній медичній практиці. Отримані уперше дані стосовно положення, що точкою поєднання на етапі розробки комплексу лікувальних та профілактичних заходів пародонтологічних пацієнтів є генетичний поліморфізм та зміна експресії сигнальних білків і структурних компонентів сигнального модуля ТФ NF-κB1, на якому сходяться активуючі стимули від патерн-розпізнавальних рецепторів, рецепторів цитокінів, факторів росту, молекул адгезії, Т- та В-клітинних рецепторів.

На підставі отриманих власних даних, вперше встановлено, що генотип (Del/Del), як поліморфний варіант гену ядерного ТФ NF-κB1, достовірно пов'язаний із виникненням швидко прогресуючого пародонтиту (ШПП) у осіб молодого віку. Вперше науково обґрунтовано, що при генотипі (Del/Ins), як поліморфному варіанті гену ТФ NF-κB1, розвиток ГП не є генетично-детермінованими, а обумовлений впливом комплексу загальних та місцевих провокуючих чинників. Уперше доведено, що генотип (Ins/Ins), як поліморфний варіант гену ТФ NF-κB1, генетично обумовлює патогенетичні механізми виникнення ГП, проте особливості клінічних проявів є більш доброякісними та характеризуються тривалим хронічним перебігом.

Доведено вплив вогнища пародонтальної інфекції на якісні та кількісні характеристики клітин букального епітелію, розкрито передумови для розвитку патологічних процесів на СОПР, пов'язаних із порушенням кератинізації в бік гіпер- та паракератозу та розроблено цитологічні предиктори ризику виникнення хвороб, пов'язаних із системним запаленням. Запропоновано шляхи трансформації запального процесу СОПР, ініційованого тривало існуючим вогнищем пародонтальної інфекції, та представлено його вплив на клітинному, органному та організмовому рівні та з'ясовано спільні патоморфологічні ланцюги ГП та хвороб, які пов'язані із системним запаленням.

Практичне значення отриманих результатів. . Отримані нові наукові дані, стосовно цитологічних закономірностей диференціювання епітеліальних клітин СОПР в нормі та при ГП, сприяють удосконаленню діагностики та прогнозуванню ефективності консервативних, хірургічних та ортопедичних втручань при лікуванні ГП і патології СОПР. У комплексі із клінічними методами, ці дані знайшли широке застосування при прогнозуванні виникнення та розвитку патології пародонта та СОПР, визначенні тенденції клінічного перебігу та оцінці динаміки захворювань.

Розроблений та запропонований морфологічний алгоритм діагностики дерматозів із аутоімунним компонентом дає можливість визначення гіперкератозних та дискератозних процесів у багатошаровому плоскому епітелії СОПР. Доведено, що розуміння перебігу процесу диференціації епітелію СОПР у нормі та в гендерному аспекті і знання каріометричних показників дають можливість оптимізувати діагностичний процес дерматозів із аутоімунним компонентом в стоматології та дерматовенерології. З цією метою нами розроблені методичні рекомендації, які затверджені Департаментом охорони здоров'я МОЗ України: «Застосування морфометричних методів дослідження в діагностиці дерматозів із аутоімунним компонентом у стоматології».

Доведено, що на підставі комплексного цитологічного аналізу вмісту пародонтальних кишень можна визначати вірогідність загострень ГП в осіб молодого віку, на що отриманий патент на корисну модель (№ 97848).

На основі імуногістохімічної характеристики клітинних інфільтратів власної пластинки ясен при ГП можна прогнозувати клінічний перебіг даної нозології, на що отримано патент на корисну модель (№ 97846).

Розроблено методичні рекомендації, які затверджені Департаментом охорони Здоров'я МОЗ України: «Застосування морфологічних методів дослідження в діагностиці та прогнозуванні клінічного перебігу генералізованого пародонтиту».

Результати досліджень впроваджені у діагностично-лікувальний процес Тернопільського обласного шкірно-венерологічного диспансеру, терапевтичного відділення Тернопільської міської комунальної поліклініки.

Результати досліджень впроваджені у навчально-педагогічний та лікувальний процес кафедр ортопедичної стоматології з імплантологією, хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії з пластичною та реконструктивною хірургією голови та шиї ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», а також кафедр гістології та ембріології, кафедри анатомії людини, кафедри функціональної діагностики та клінічної патофізіології, патологічної анатомії із секційними курсом та судової медицини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, нормальної фізіології, патологічної фізіології, дитячої стоматології, ортопедичної стоматології, терапевтичної, хірургічної стоматології та кафедри стоматології ННІ післядипломної освіти ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедри ортопедичної стоматології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», кафедр гістології, цитології, та ембріології, патологічної анатомії, терапевтичної стоматології, ортопедичної стоматології, хірургічної та дитячої стоматології Буковинського державного медичного університету, кафедр терапевтичної, ортопедичної стоматології та стоматології післядипломної освіти Ужгородського національного університету, кафедри стоматології та ортопедичної стоматології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України (м. Київ), кафедри терапевтичної стоматології Львівського медичного інституту, кафедр оперативної хірургії із топографічною анатомією, ортопедичної стоматології, терапевтичної стоматології, стоматології дитячого віку Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедри терапевтичної стоматології та стоматологічного медичного центру Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (м. Київ); кафедри ортопедичної стоматології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова;

кафедри патологічної анатомії медичного інституту Сумського державного університету, кафедр ортопедичної стоматології та ортодонтії ПВНЗ «Київський медичний університет УАНМ», кафедри ортопедичної стоматології Одеського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною завершеною науковою працею здобувача. Автором особисто проаналізована наукова література з проблеми дослідження та проведений патентно-інформаційний пошук, сформульовані мета і завдання, а також засоби їх вирішення.

Клінічні, цитологічні і цитохімічні дослідження автор виконала на базі кафедри терапевтичної стоматології ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» та на базі цитологічної лабораторії Полтавського обласного онкологічного диспансеру (завідувач лабораторії Н.І. Мосієць).

Морфологічні дослідження автор виконала власноручно на базі кафедри гістології, цитології та ембріології ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія». Електронно-мікроскопічні дослідження виконані за участю здобувача на базі Інституту морфології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» (директор інституту – к.мед.н., доцент І.І. Боймиструк). Імуногістохімічні дослідження проведені на базі відділу імуноморфології пухлин людини діагностичного центру Дніпропетровської медичної академії (керівник відділу професор І.С. Шпонька). Молекулярно-генетичні дослідження проведені на базі інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава) (директор інституту д.мед.н., професор Л.Е. Весніна). Статистична обробка одержаних результатів проведена за допомогою сертифікованих пакетів програм «Statistica» компанії «StatSoft».

Дисертант самостійно розробила основні теоретичні та практичні положення роботи, здійснила аналіз і узагальнення отриманих результатів, що дозволило обґрунтувати висновки та запропонувати відповідні практичні рекомендації. У наукових роботах, надрукованих у співавторстві, реалізовані наукові ідеї здобувача. Дисертантом особисто написані, проілюстровані і підготовлені до друку всі розділи дисертації. Автору належить фактичний матеріал, отриманий ним при проведенні досліджень.

Апробація результатів дисертації. На етапах виконання дисертаційної роботи її основні положення доповідались на: конференції, присвяченій 90-річчю ВДНЗ України «УМСА» (Полтава, 2011); всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної морфології», присвяченій 75-ій річниці з дня народження М.С. Скрипнікова (Полтава, 2011); науково-практичній конференції «Морфологічні аспекти мікроциркуляції в нормі та патології» (Тернопіль, 2011); республіканській науково-практичній

конференції з міжнародною участю «Актуальные проблемы стоматологии» (Бухара, 2012); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Інтернаціоналізація вищої медичної освіти: науково-методичні засади освіти іноземних громадян у вищих медичних навчальних закладах» та «Жутаєвських читаннях» (Полтава, 2013); V науково-практичній конференції «Інноваційні технології в стоматології» (Тернопіль, 2013); всеукраїнській науково-практичній конференції «Морфологічні аспекти ангіології» (Тернопіль, 2013); III регіональній науково-практичній конференції з міжнародною участю із дитячої стоматології «Актуальные проблемы стоматологии детского возраста» (Хабаровск, 2013); науковій конференції молодих учених з міжнародною участю «Актуальные вопросы медицинской науки» (Самарканд, 2014); конгресу «Scientific resources management of countries and regions» (Copenhagen, Denmark, 2014); конгресі «Global scientific unit» (Prague, Czech Republic, 2014); науково-практичній конференції «Інноваційні технології в стоматології» (Тернопіль, 2014); науково-практичній конференції «Актуальні проблеми функціональної морфології» (Полтава, 2014); IV міжнародній конференції студентів і молодих вчених «Актуальні питання сучасної стоматології» (Ужгород, 2015); 69-й науково-практичній конференції молодих вчених «Вопросы современной медицинской науки» (Самарканд, 2015); міжнародній медико-біологічній науковій конференції молодих вчених «Фундаментальная наука и клиническая медицина» та XVIII Всеросійській конференції «Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2015); міжнародній науково-практичній конференції «Теоретичні і практичні проблеми розвитку сучасної медичної науки» (Одеса, 2015).

Публікації. Матеріали дисертаційної роботи висвітлені в 48 друкованих працях, з яких 23 – статті представлені в наукових фахових виданнях України (із них 15 у моноавторстві), 16 статей опубліковано у виданнях, які включені до переліку міжнародних наукометричних баз, 6 – у закордонних виданнях; 15 тез **опубліковано** в матеріалах наукових конгресів і конференцій; отримано 2 патенти України на корисну модель та **опубліковано** 2 збірки методичних рекомендацій, затверджених департаментом медичної допомоги МОЗ України. Дані, наведені у публікаціях, повністю відповідають змісту проведених досліджень.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 401 сторінці машинопису, із них 298 складають основний зміст. Робота складається із вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, п'яти розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків. Дисертація ілюстрована 23 таблицями та 156

рисунками. Список використаних джерел включає 513 найменувань, із яких 259 кирилицею та 254 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проведене на кафедрі гістології, цитології та ембріології ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» спільно з науково-дослідним інститутом генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України, м. Полтава.

Комісія з етичних питань та біоетики ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» у складі, затвердженому ректором (наказ №350 від 08.11.2012 р.) на своєму засіданні (протокол №120 від 14.01.2015 р.) розглянула матеріали з виконання роботи і визначила, що при роботі з пацієнтами були дотримані загальні етичні правила гуманного ставлення до пацієнтів згідно з вимогами Токійської декларації Всесвітньої медичної асоціації, Міжнародними рекомендаціями Гельсінської декларації прав людини, Конвенцією Ради Європи щодо прав людини і біомедицини, законом України від 5.10.2000 року № 2017 – III «Про державні соціальні стандарти та державні соціальні гарантії», Наказом МОЗ України від 28.12.2002 року №507 «Про затвердження нормативів надання медичної та показників якісної медичної допомоги» та вимогами етичного кодексу лікаря України.

Для вирішення поставлених завдань проведено клінічне стоматологічне обстеження 226 осіб обох статей. Після первинного огляду пацієнтів рандомізували на 4 основні групи спостережень, залежно від статі та комплексу запланованих морфологічних досліджень (табл. 1).

При вирішенні поставлених завдань проводили дослідження стоматологічного статусу за загальноприйнятими критеріями, результати заносили в амбулаторні карти стоматологічного хворого 0–43/о. Основними стоматологічними критеріями відбору серед загального контингенту обстежених слугували добрий гігієнічний індекс, який розраховували за J.C. Green, J.R. Wermillion (1964), відсутність патології тканин пародонта та СОПР у осіб I, II та III груп спостережень. Пародонтологічний статус об'єктивізували на основі індексу РМА в модифікації С. Parma (1960).

Клінічними критеріями для встановлення діагнозу в осіб обстеженого контингенту слугували:

- 1) вік пацієнтів переважно від 21 до 35 років (згідно з віковим розподілом ВООЗ);
- 2) анамнестичні дані пацієнтів (спадковість, тривалість захворювання від 1 до 3 років та частота загострень за рік);

3) дані об'єктивного обстеження (генералізований характер деструкції кісткової тканини).

Таблиця 1

Розподіл обстежених осіб за групами спостереження

I група	Жінки	Доба циклу	1–3	7
			4–7	11
			8–11	13
			12–15	15
			16–18	12
			19–23	11
			24–28	9
			Всього	78
II група	Чоловіки	Контрольна		23
		Курці		25
			Всього	48
III група	Без ознак патології пародонту			45
IV група	Хворі на ГП			55
Загальна кількість обстежених				226

Діагноз змін тканин пародонта реєстрували за класифікацією М.Ф. Данилевського (1994).

Матеріалом для цитологічного дослідження був букальний, ясенний та вагінальний епітелій, який після забору наносили на стерильне предметне скло. Висушування матеріалу проводили методом сухої фіксації при кімнатній температурі, за умов відкритого доступу повітря, з подальшим їх комбінованим забарвленням за Романовським–Гімза. Кількісні показники визначали шляхом підрахунку різних типів клітин у 5 полях зору, при цьому фіксували кількість в абсолютних цифрах та визначали середні показники (мікроскоп «Мікрос-50», Австрія).

Для комплексного вивчення морфологічних змін в яснах при ГП нами проведено гістологічне дослідження клініко-анатомічного матеріалу, а саме 22 фрагментів, забраних під час планових оперативних втручань на тканинах пародонта.

Матеріал для електронно-мікроскопічного дослідження фіксували в 2,5 % розчині глютарового альдегіду з постфіксацією в осмієвій кислоті і заключали в Епон–812 за загальноприйнятою методикою. Для попереднього вивчення матеріалу на світлооптичному рівні із отриманих блоків виготовляли серійні напівтонкі зрізи. Отримані зрізи забарвлювали 0,1 % розчином толуїдинового синього. Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікротомі LKB – 3 (Швеція). Контрастування зрізів проводили спочатку в 1 % розчині ураніацетату, потім

цитратом свинцю за Reynolds (1956). Вивчали на електронному мікроскопі ПЕМ – 125 К (серійний номер 38-76, ТУ 25-07-871-70) при прискорюючій напрузі 50-75 КВт.

Відповідно до поставлених завдань, у процесі імуногістохімічних досліджень використовували моноклональні антитіла CD-3 (клон SP7 (LabVision), CD-4 (клон 4B12, «DakoCytomation»), CD-20 (клон L26, LabVision), CD-68 (клон KP1, «DakoCytomation»), Ki-67 (клон MIB-1, «DakoCytomation»), (VEGF)-Vascular Endothelial Growth Factor (специфічний фактор росту ендотеліальних клітин). Візуалізацію результатів імуногістохімічних досліджень проводили за системою En Vision («DakoCytomation»). У деяких випадках для диференціювання структур отримані зрізи додатково забарвлювали гематоксином Маєра. Ступінь експресії оцінювали індивідуально для кожного маркера та визначали на, щонайменше, 8–10 випадково обраних полях зору цифрового світлового мікроскопа. Показники експресії маркерів визначали на основі ідентифікації як мінімум 300 об'єктів. Експресію моноклональних антитіл визначали на підставі специфічного брунатного забарвлення цитоплазми клітин. Залежно від інтенсивності забарвлення експресію оцінювали як негативну, низьку, помірну та високу.

Каріометричне дослідження матеріалу проводили на різних епітеліальних класах клітин на напівтонких зрізах. Гістологічні препарати спочатку вивчали на імерсійному збільшенні світлового мікроскопа Biorex-3 VM – 500T з цифровою мікрофотонасадкою DCM – 900 з адаптованими для каріометричних досліджень програмами, з метою ідентифікації інтерфазних клітинних елементів. За допомогою окуляр-мікрометра визначали великий і малий діаметри ядер щонайменше в 100 інтерфазних клітинах. В процесі власних вимірювань похибка не перевищувала 0,002 %, що відповідає вимогам для медико-біологічних досліджень ($p < 0,05$).

На основі отриманих результатів розраховували логарифми об'ємів ядра за формулою обертового овоїда згідно з Я.А. Хесінім (1967).

Виділення поліморфної ділянки гена ТФ NF-κB1 проводили із клітин букального епітелію обстежених шляхом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Забір матеріалу проводили стерильними одноразовими стоматологічними брашами з подальшим внесенням в епендорфи з реактивом «ДНК-експрес» (НПФ «ЛиТех», Росія). Геномну дезоксирибонуклеїнову кислоту виділяли за допомогою набору «ДНК-експрес» («ЛиТех», Москва). Поліморфну ділянку гена NF-κB1 (rs28362491) ампліфікували за допомогою ПЛР (А.Н. Montes, 2006).

Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі «Терцик» (ООО «ДНК-Технологія», Росія). Для ідентифікації алелей проводили рестрикційний аналіз ампліконів за допомогою ендонуклеази рестрикції PfiMI («СибЭнзим», Росія)

при 37 °С. Продукти розщеплення поліморфної ділянки гену ТФ NF-κВ1 виявляли за допомогою горизонтального електрофорезу в 2 % агарозному гелі в однократному ТВЕ (50 мМ трис-Н₃ВО₃ та 2 мМ ЕДТА, рН 8.0), впродовж 2 годин при напрузі 2V на 1 см гелю. У якості маркера молекулярної ваги ДНК використовували рBR322/Alu I. Гелі забарвлювали етидіумом бромідом із наступною візуалізацією результатів в ультрафіолетовому світлі.

Отримані у процесі обстеження пацієнтів абсолютні кількісні показники обробляли методами математичної статистики, з розрахунком середніх вибірових значень та похибок середніх значень у групах обстежених осіб.

При визначенні вірогідності відмінностей перевірку відповідності нормальному закону розподілу проводили за тестом Шапіро–Уїлка. У випадках, коли закон розподілу статистично значимо не відрізнявся від нормального, статистичну вірогідність змін показників у незалежних вибірках визначали за допомогою t-критерію Стюдента. Відмінності вважали вірогідними при загальноприйнятій у медико-біологічних дослідженнях похибці $p < 0,05$. У випадках, коли закон розподілу статистично значимо відрізнявся від нормального, у визначенні вірогідних відмінностей розраховували непараметричний критерій (U) Манна–Уїтні, як непараметричний аналог t-критерію Стюдента для незалежних вибірок, та застосовували метод Уїлкоксона для зв'язаних вибірок і критерій χ^2 . Для аналізу взаємозв'язків кількісних параметрів, які вивчалися, визначали коефіцієнт кореляції (r) Спірмена.

Аналіз поліморфних варіантів гену ТФ NF-κВ1 проводили за допомогою популяційно-статистичного методу. При статистичному опрацюванні результатів молекулярно-генетичного дослідження, згідно із визначеним генотипом (Del/Del), (Del/Ins), (Ins/Ins), за основу для з'ясування генетичної структури популяції брали закон генетичної рівноваги Харді–Вайнберга. На підставі цього закону, згідно з даними щодо частоти прояву в популяції рецесивного фенотипу, що має гомозиготний генотип, розраховували поширеність поліморфних варіантів ТФ NF-κВ1 у обстежених групах (О.Ю. Реброва, 2002).

Результати дослідження та їх обговорення. Встановлено наявність синхронних змін кількісних параметрів парабазальних епітеліоцитів щоки та піхви. Максимальна кількість парабазальних епітеліоцитів слизової оболонки щоки визначалась в менструальній фазі, з подальшою тенденцією до зменшення їх кількості в ранній лютеїновій та відсутністю впродовж наступних трьох фаз (табл. 2). Даний клас клітин з'являвся у середній лютеїновій фазі та впродовж пізньої лютеїнової мав тенденцію до зростання.

Наявність в клітинному складі парабазальних епітеліоцитів лише у вказаній фазі циклу можна розглядати як норму для обстеженого контингенту

осіб, що, за аналогією із закономірностями диференціації епітеліоцитів піхви, відображає низький рівень естрогенної насиченості. Букальні парабазальні епітеліоцити здебільшого округлої, іноді неправильної форми, цитоплазма базофільна, ядро гіперхромне.

Таблиця 2

**Середні значення відсоткового співвідношення різних класів клітин
букального епітелію жінок молодого віку залежно від фази менструального
циклу**

Фаза менструального циклу	Доба циклу	Клітинний склад мазків-зішкрябів (%)			
		пара-базальні	Проміжні	поверхневі	рогові лусочки
Менструальна	1–3	1,10±0,10	93,50±1,21#	5,50±0,29#^	–
Рання фолікулінова	4–7	–	92,23±0,87*#	7,77±0,45*	–
Середня фолікулінова	8–11	–	90,50±0,77*^	8,60±0,49*^	0,90±0,10
Пізня фолікулінова	12–15	–	89,30±0,71*#^	9,20±0,58*^	1,50±0,12#
Рання лютеїнова	16–18	–	91,30±0,70*#	8,10±0,47*#^	0,60±0,09#
Середня лютеїнова	19–23	–	93,40±1,19#	6,60±0,35*#	–
Пізня лютеїнова	24–28	0,87±0,10	97,50±1,27*#^	1,63±0,12*#^	–
Середнє значення співвідношення		1,00±0,12	92,53±1,01	6,77±0,98	1,00±0,26
Примітки: 1. * – $p < 0,05$ порівняно з менструальною фазою; 2. # – $p < 0,05$ порівняно з середньою фолікуліновою фазою; 3. ^ – $p < 0,05$ порівняно з середньою лютеїновою фазою.					

Динаміка змін кількісних параметрів проміжних епітеліоцитів вказаних анатомічних локалізацій впродовж менструального циклу також характеризувалась синхронністю. При цьому слід зазначити, що мінімальні показники цих величин спостерігалися у пізній фолікуліновій фазі, що вказує на максимальний рівень естрогенних гормонів в організмі, тоді як максимальна кількість проміжних епітеліоцитів спостерігалась у пізній лютеїновій фазі, відображаючи, таким чином, тенденцію до зниження рівня естрогенів.

Наведені зміни клітинного складу відображають особливості естроген–прогестеронової взаємодії в даній фазі менструального циклу із урахуванням періоду оновлення епітелію щоби (В.Л. Биков, 1998).

Цитоплазма проміжних букальних клітин характеризувалась наявністю чітко виражених філаментозних нитчастих структур. Вони здебільшого визначались між по всій цитоплазмі клітин, в окремих клітинах – розташовувались перинуклеарно. У випадку перинуклеарного розташування тонофіламентів, в окремих ділянках цитоплазми зустрічались азур-позитивні включення.

Максимальний кількісний показник поверхневих епітеліоцитів в клітинному складі щоки спостерігавсь у пізній фолікуліновій фазі, що підтверджує напрацювання попередників стосовно стимуляції естрогенними гормонами дозрівання епітеліальних клітин (І.П. Шабалова, 2001). Мінімальних значень цей показник сягав у пізній лютеїновій фазі, вказуючи на естрогенодефіцит, при цьому криві, які відображають динамічний процес змін кількісних параметрів епітеліоцитів піхви, є пологішими, тоді як відображення змін поверхневих клітин ясенного та букального епітелію формує криву параболічного характеру, що підтверджує напрацювання (Н.І. Михайлова, 1979) стосовно регіонарних особливостей анатомічних ділянок СОПР.

Залежно від форми поверхневих клітин ядро мало овальну або овоїдну форму. У більшості клітин ядра пікнотичні, при цьому філаментозні структури мали більш чіткі контури. Кількісний склад даного класу клітин є максимальним у пізній фолікуліновій фазі, що вказує на інтенсивність перебігу процесу диференціації букального епітелію та естрогенну насиченість організму, стереотипно епітелію піхви.

Поряд із еозинофільними поверхневими клітинами у клітинному складі букального епітелію обстеженого контингенту осіб візуалізувались азур-позитивні (базофільні) епітеліоцити. Останні мали чіткі контури плазмолем з узурованою поверхнею. Порівняно з попередніми еозинофільними клітинами, базофільні мали добре виражене округле ядро та характеризувались наявністю у цитоплазмі дрібних азур-позитивних гранул, що містили глікогенові включення.

Впродовж менструального циклу змінювались кількісні показники рогових лусочок ясен та щоки. Вони були більш виражені в ясенному епітелії. Максимальних значень показник середньої кількості рогових лусочок ясен набував на пізній фолікуліновій фазі, тоді як мінімальним він був у пізній лютеїновій (табл. 3).

Динаміка змін кількісних параметрів рогових лусочок букального епітелію також характеризувалась циклічністю (див. табл. 2). Проте вона відображала як фазність менструального циклу, так і регіонарні особливості. Максимум середніх значень кількості рогових лусочок букального епітелію припадав на пізню фолікулінову фазу, а відсутність рогових лусочок

спостерігалась вже в ранній лютеїновій, що вказує на малу товщину рогового шару епітелію щоки.

Таблиця 3

Середні значення співвідношення різних класів клітин багат шарового плоского епітелію ясен жінок молодого віку в нормі залежно від фази менструального циклу

Фаза менструального циклу	Доба циклу	Клітинний склад мазків-зішкрябів (%)		
		проміжні	Поверхневі	Рогові лусочки
Менструальна	1–3	65,20±1,20	10,00±0,27	24,80±0,52
Рання фолікулінова	4–7	58,60±0,68*	11,30±0,43*	30,10±0,60*
Середня фолікулінова	8–11	57,10±0,65*	12,70±0,45*	30,20±0,67
Пізня фолікулінова	12–15	54,00±0,53*	14,50±0,69	31,50±0,65
Рання лютеїнова	16–18	56,20±0,61*	14,10±0,59	29,70±0,59
Середня лютеїнова	19–23	58,40±0,72*	11,50±0,46*	29,10±0,51
Пізня лютеїнова	24–28	63,10±0,79*	8,30±0,35*	28,60±0,44
Середнє значення диференціації	Менструальний цикл	58,94±1,48	11,77±0,83	29,14±0,80
Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно з попередньою фазою.				

Ступінь вираженості змін кількісного складу в динаміці менструального циклу зумовлений фазою і більш чітко визначався у ясенному епітелії, порівняно із епітелієм щоки. В епітелії ясен за умов зміни фаз менструального циклу від менструальної до пізньої лютеїнової спостерігався зсув диферону епітеліальних клітин в сторону зрілих форм епітеліоцитів. Посилювалась мікробна контамінація, збільшувались розміри цитоплазми і ядер проміжних епітеліоцитів. Різниця в якісному складі відображає чітку регіонарність і зумовлює наявність у цитограмах епітелію ясен значно більшої кількості клітин, які знаходяться на термінальних стадіях диференціації (поверхневі епітеліоцити із пікнотичними ядрами, рогові лусочки) (див. табл. 3). Також збільшувалась кількість клітин із ознаками деструкції. Геометричні розбіжності проявлялись у різниці форми та розміру клітин – проміжні епітеліоцити ясен мали менші розміри та гексагональну форму, що узгоджується із результатами наукових досліджень попередників (Е.А. Сапронова, 2006)

Підтверджено вплив змін гормонального фону на адгезивність букального епітелію в фолікуліновій фазі, від чого залежить як характер мікробної колонізації, так і стан місцевого імунітету анатомічної ділянки і СОПР в цілому. Це пов'язано із посиленням кератинізації клітин та підвищенням адгезивних властивостей епітеліоцитів під впливом естрогенних гормонів.

Клітинний склад щоки, у чоловіків, представлений проміжними ($92,00 \pm 2,18$) та поверхневими клітинами ($4,70 \pm 0,19$), а також роговими лусочками ($3,30 \pm 0,14$) (табл.4). Результатами власних досліджень визначено відсоткове співвідношення різних класів епітеліоцитів для чоловіків молодого віку. Воно складає: $0 : (92,00 \pm 2,18) : (4,70 \pm 0,19) : (3,30 \pm 0,14)$.

Таблиця 4

Порівняльна характеристика середніх значень співвідношення різних класів клітин багат шарового плоского епітелію щоки у гендерному аспекті

Контингент осіб	Клітинний склад мазків-зішкрябів (%)			
	Парабазальні	проміжні	поверхневі	рогові лусочки
Жінки	$0,99 \pm 0,12$	$92,53 \pm 1,01$	$6,77 \pm 0,98$	$1,00 \pm 0,26$
Чоловіки	0	$92,00 \pm 2,18$	$4,70 \pm 0,19^*$	$3,30 \pm 0,14^*$

Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно із показниками осіб жіночої статі.

Клітинний склад ясен у чоловіків представлений проміжними ($59,20 \pm 1,15$) і поверхневими клітинами ($7,60 \pm 0,34$), а також роговими лусочками ($33,20 \pm 0,65$). У частині клітин спостерігалися ознаки деструкції у вигляді порушення чіткості контурів плазмолемми та численних інвагінацій (табл. 5). Уперше визначено відсоткове співвідношення різних класів епітеліоцитів залежно від ступеня їх диференціації. Воно складає: $0 : (59,2 \pm 1,16) : (7,6 \pm 0,43) : (33,2 \pm 0,88)$.

Таблиця 5

Порівняльна характеристика середніх значень співвідношення різних класів клітин багат шарового плоского епітелію ясен у гендерному аспекті

Контингент осіб	Клітинний склад мазків-зішкрябів (%)			
	парабазальні	проміжні	поверхневі	рогові лусочки
Жінки	0	$58,94 \pm 1,48$	$11,77 \pm 0,83$	$29,14 \pm 0,80$
Чоловіки	0	$59,20 \pm 1,15$	$7,60 \pm 0,34^*$	$33,20 \pm 0,65^*$

Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно із показниками осіб жіночої статі

У процесі комплексного цитологічного аналізу отримані результати, які дають можливість визначити ряд міжкласових відмінностей букальних та ясенних епітеліоцитів. Встановлено, що фаза менструального циклу не

впливала на розміри клітин та ядер букальних епітеліоцитів. При цьому, статеві відмінності були більш вираженими, ніж відмінності, обумовлені фазою менструального циклу.

Отже, гендерні розбіжності є стабільнішими і більш значущими, ніж відмінності, обумовлені фазою менструального циклу. Епітелій щоки, як і епітелій ясен, у нормі характеризується статевим диморфізмом. Його залежність від фази менструального циклу в нормі слабша, ніж у епітелію ясен.

Функціонування захисних механізмів тканин пародонта забезпечується гомеостазом епітелію ясенної борозни та ясенною рідиною, компоненти якої беруть активну участь у фагоцитозі та захисті тканин за умов мікробного впливу, виконуючи роль імунної ланки в каскаді патогенетичних механізмів (А.С. Григор'ян, 2000; А.С. Грудянов, 2009)

Шляхом гістохімічної ідентифікації з використанням в якості барвника ШЙК-тіонінового синього встановлено, що епітелій борозни є багат шаровим плоским без зроговіння та має дві чітко виражені зони: перша зона забарвлена у темно-фіолетовий колір, відповідає базальному та шипуватому шарам; друга зона представлена поверхневими клітинами, забарвленими у бузковий колір. Базальні клітини епітелію завдяки базофільності цитоплазми забарвлюються в темно-фіолетовий колір, тоді як шипуваті і частина поверхневих клітин містять зерна глікогену, які набувають пурпурового кольору. У епітеліоцитах, що відторгаються та мають вакуолізовану цитоплазму, ядра пікнотичні. Накопичення глікогену свідчить про його використання як для подальшої диференціації, так і для вступу клітин у мітози.

Проведені імуногістохімічні дослідження показали, що у клітинах базального та проміжного шарів епітелію ясенної борозни визначаються високий та помірний ступені експресії маркера Ki-67 у вигляді забарвлених у темно-коричневий та світло-коричневий колір ядер клітин епітелію. Експресія проявлялась дифузним темно-брунатним інтрануклеарним забарвленням. Це свідчить про високу мітотичну активність сулькулярного епітелію.

У епітелії ясенної борозни спостерігалось явище прекератозу – незавершене зроговіння. При цьому в його базальних клітинах, на полірибосомах, поблизу десмосом та напівдесмосом, проходить синтез тонофіламентів. У шипуватих клітинах епітелію тонофібрили утворювали пучки, утворюючи тонофібрили, які формують внутрішній цитоплазматичний каркас. Поверхневі епітеліоцити верифікувались лише ультраструктурно і характеризувались зменшенням кількості та зміною розташування тонофібрил. Зазначені вище механізми диференціювання епітеліоцитів ясенної борозни свідчать про наявність у власній пластинці епітелію борозни особливого лімфоепітеліального бар'єру, який забезпечує місцевий імунітет сулькулярного епітелію.

Детальний аналіз результатів молекулярно-генетичного дослідження показав, що 30 (55 %) хворих на ГП мали генотип (Del/Ins) – гетерозигота, ще 16 осіб (29 %) генотип (Ins/Ins) – гомозигота, із розміром фрагменту поліморфної ділянки розміром 94 bp. Найбільш виражені клінічні прояви запально-дистрофічних змін у тканинах пародонта, характеристика яких відповідала клінічній картині ШПП, спостерігали у 9 осіб (16 %) із наявністю гомозиготи (Del/Del) (табл. 6).

Таблиця 6

Розподіл поліморфних варіантів гену транскрипційного фактора NF-κB1 у пацієнтів із інтактним пародонтом та хворих на генералізований пародонтит

Характеристика обстежених	Гомозигота (D/D)	Гетерозигота (D/I)	Гомозигота (I/I)
Пацієнти із інтактним пародонтом (45 осіб)	5 (11 %)	23 (51 %)	17 (38 %)
Хворі на генералізований пародонти (55 осіб)	9 (16 %)	30 (55 %)	16 (29 %)

Примітка. Розподіл генотипів поліморфізмів (Ins/Ins, Ins/Del, Del/Del) визначали у відповідності із законом генетичної рівноваги Харді–Вайнберга. Вірогідність відмінностей визначено за критерієм χ^2 із поправкою на безперервність Yates.

За результатами кореляційного аналізу із визначенням коефіцієнта кореляції Спірмена ($p < 0,05$) отримані дані щодо відсутності кореляційних зв'язків між визначеними параметрами у осіб із поліморфним варіантом (Del/Del). Відсутність кореляції в даному випадку свідчить, що незалежно від того, як змінюються показники (РМА, наявна чи відсутня супутня соматична патологія та ін.), умовно головний, в даному випадку генотип (Del/Del) є незмінним і визначальним фактором, що обумовлює розвиток ГП, клінічна картина якого відповідає ШПП.

В той же час, у 30 осіб із генотипом (Del/Ins) визначено наявність прямого кореляційного зв'язку за Спірменом ($p < 0,05$) між імуногістохімічним профілем індивідуума та наявною супутньою соматичною патологією із коефіцієнтом кореляції ($r = 0,60$), між шкідливою звичкою (куріння) та індексом РМА ($r = 0,17$), що вказує на безпосередню роль цих параметрів у виникненні та розвитку ГП. Необхідно зазначити наявність достовірного зворотного кореляційного зв'язку за Спірменом ($p < 0,05$) між індексом РМА і супутньою соматичною патологією ($r = -0,40$) та імуногістохімічним профілем індивідуума ($r = -0,37$).

Характеристика визначених кореляційних зв'язків між параметрами дає можливість стверджувати, що розвиток ГП при даному поліморфному варіанті не є генетично-детермінованим, а обумовлений впливом комплексу екзогенних та місцевих патогенних чинників, які ініціюють розвиток індукованого ГП, враховуючи можливі шляхи активації ТФ NF-κB1, що сприяє появі чи посилює перебіг патологічних реакцій у тканинах пародонта.

Необхідно зазначити відсутність достовірного прямого кореляційного зв'язку за Спірменом ($p < 0,05$) між параметрами в генотипі (Ins/Ins), що також дає можливість припустити, що патогенетичні механізми ГП у осіб із даним поліморфним варіантом мають генетичну складову, проте особливості клінічних проявів є більш доброякісними та характеризуються хронічним тривалим перебігом, порівняно із поліморфним варіантом (Del/Del).

У контрольній групі, яку склали пацієнти із здоровим пародонтом, генотип (Del/Del) мали 5 осіб (11%), що дає можливість формування групи ризику захворюваності на ГП, та є підставою взяти даний контингент осіб під диспансерний нагляд. 23 особи (51 %) із поліморфним варіантом ТФ NF-κB1 (Del/Ins) складають групу ризику у випадку наявності шкідливих звичок, супутньої соматичної патології, що в перспективі створює передумови для розвитку індукованого ГП на тлі судинних розладів власної пластинки ясен. 17 осіб (33 %) із поліморфним варіантом ТФ NF-κB1 (Ins/Ins) складають групу ризику у випадку впливу як місцевих несприятливих факторів, так і наявних зубощелепних аномалій та деформацій.

Результати проведеного кореляційного аналізу свідчать, що генотип (Del/Del), як поліморфний варіант гену ТФ NF-κB1, достовірно пов'язаний із виникненням ШПП у осіб молодого віку. Тому на сьогодні є необхідність врахування в діагностиці ГП поліморфних варіантів генів, а саме поліморфізму ТФ NF-κB1, що дасть можливість деталізувати патогенетичні механізми ГП з метою прогнозування виникнення та розвитку даної нозологічної одиниці, що слугуватиме генетичним тлом для обґрунтування та розробки профілактично-лікувальних заходів.

Результати дослідження гістологічних препаратів ясен при ГП вказують на наявність змін у всіх гістотопографічних ділянках епітеліальної пластинки ясен та сполучної тканини, а також на порушення регіонарної анатомічної зональності частин ясен за рахунок утворення пародонтальних кишень.

Базальні клітини епітеліальної пластинки втратили чіткість конфігурації та зменшені в розмірах, у міжклітинних проміжках візуалізувались лімфоцитарні інфільтрати. Проміжні клітини мають базофільну цитоплазму та нечіткі контури ядер. Цитоплазма шипуватих клітин оптично світла за рахунок вакуолізації та містила дрібні ШІК-позитивні гранули, що свідчить про наявність у них глікогену. Поверхневі шипуваті епітеліоцити за будовою є стереотипними даному типу клітин. Ядра по мірі досягнення поверхні

епітеліального пласта зморщуються та пікнотично змінюються. Базальні клітини епітеліальної пластинки прикріпленої частини ясен розташовані на нечітко контурованій базальній мембрані. Відмічається їх висока мітотична активність, що проявляється наявністю фігур мітозу. Це забезпечує проліферативну здатність епітелію відносно сполучної тканини. У сполучній тканині власної пластинки візуалізуються епітеліальні гребінці, наявні фібробласти різного ступеня зрілості та судини, що дозволяє характеризувати тканину як грануляційну – незрілу сполучну, що узгоджується із напрацюваннями провідних клініцистів стосовно вмісту пародонтальних кишень (Т.О. Петрушанко і співав., 2009; А.И. Грудянов, 2010). Встановлено, що в інфільтратах грануляційної тканини пародонтальних кишень визначається високий ступінь експресії маркера VEGF. Це пояснюється тим, що серед ангіогенних факторів, які продукує грануляційна тканина, найспецифічнішим є фактор росту ендотеліальних клітин, який виробляється грануляційною тканиною для стимулювання васкулогенезу і ангіогенезу. Останнє дає можливість стверджувати, що у грануляційній тканині, яка утворилася внаслідок запального процесу, формуються молоді капіляри. У ході прогресування ГП у грануляційній тканині формується певний ангіогенний потенціал, який реалізується через секрецію VEGF, фактора росту фіброblastів, ангіогенинів.

Результатами високоспецифічного імуногістохімічного дослідження біоптатів ясен хворих на ГП із використанням маркерів CD-3, CD-4 та CD-20 встановлено цитоналежність сполучнотканинних інфільтратів власної пластинки ясен при ГП. Шляхом аналізу специфіки імуногістохімічної експресії маркерів на плазмолемі клітин, які утворювали запальні інфільтрати, нами вперше проведено розподіл їх на групи та виділено три імуногістохімічні профілі інфільтратів власної пластинки ясен при ГП. Результати кореляційного аналізу із визначенням коефіцієнта кореляції (r) Спірмена показали наявність кореляційного зв'язку CD-20 імуногістохімічного профілю із частотою загострень ГП 5 разів на рік. При цьому слід відзначити сильну статистичну значимість кореляційного зв'язку ($r=0,94$, при $p<0,05$). Визначений нами імуногістохімічний профіль CD-3 корелює із частотою загострень 3 рази на рік, утворюючи статистично вірогідний зв'язок із коефіцієнтом кореляції $r=0,58$ ($p<0,05$).

Встановлений імуногістохімічний профіль CD-4 корелює із частотою загострень 1 раз на рік, утворюючи статистично вірогідний зв'язок із коефіцієнтом кореляції $r=0,51$ ($p<0,05$).

Отримані результати, стосовно наявності кореляційних зв'язків анамнестичних та клінічних показників із характером CD-належності клітинних інфільтратів власної пластинки ясен при ГП, дали можливість систематизувати ГП у осіб молодого віку на клініко-морфологічні форми залежно від переважання в запальних інфільтратах Т- чи В-клітин та запропонувати схему

патогенетичних механізмів перебудови місцевого імунітету власної пластинки ясен при ГП.

Аналіз кореляційних зв'язків слугував теоретичним підґрунтям умовної систематики ГП у осіб молодого віку на «стабільний» ГП – з частотою загострень 1 раз на рік, CD-4 імуногістохімічним профілем та генотипом (Ins/Ins); «умовно стабільний» ГП – з частотою загострень 3 рази на рік, CD-3 імуногістохімічним профілем та генотипом (Del/Ins); «прогресуючий» ГП – з частотою загострень 5 разів на рік, CD-20 імуногістохімічним профілем та генотипом (Del/Del) (рис. 4).



Рис. 4 Систематика ГП за імуногістохімічним та генетичним профілями індивідуума.

Результати власних досліджень дають можливість стверджувати про вплив вогнища пародонтальної інфекції на стан СОПР, оскільки клітинний склад букального епітелію зазнав цитоспецифічної перебудови.

Серед проміжних букальних епітеліоцитів визначені епітеліоцити із ознаками некробіозу. Вони невеликих розмірів за рахунок зменшення об'єму цитоплазми, порівняно із стереотипними проміжними епітеліоцитами. Ядра перебувають в стані лізису, середньої оптичної щільності із розсіяними грудочками хроматину. Цитоплазма характеризувалась піноподібною структурою.

Особливістю клітинного складу є наявність великої кількості сегментоядерних нейтрофільних лейкоцитів, окремі з яких перебувають в стані

лізису і сконцентровані по периферії епітеліальних скупчень. Частина поверхневих епітеліоцитів за цитологічною організацією аналогічні даному типу клітин у нормі. Проте визначались поодинокі клітини із фрагментованими ядрами. Контури клітини неправильні. Цитоплазма гомогенна, із численними узурами та інвагінаціями плазмолеми.

Доволі часто серед клітин визначали еліміновані ядра проміжних епітеліоцитів. Наявність наведених голо ядерних клітин і залишків зруйнованих ядер у вигляді грудочок хроматину, обумовлене впливом мікробного складу вогнища пародонтальної інфекції (K.S. Kornman, 2008).

Нейтрофіли із сегментованими ядрами та нечіткими контурами плазмолеми. Також, особливістю букальних епітеліоцитів є агрегація поверхневих клітин та рогових лусочок у конгломерати. Ядра поверхневих епітеліоцитів при цьому пікнотичні, гіперхромні, цитоплазма містить поодинокі еозинофільні гранули. Рогові лусочки нечисленні. Привертає увагу інтенсивна контамінація мікробної флори, переважно кокової, яка утворювала специфічні ланцюжкові і напівкільцеві фігури на поверхні клітинних та лусочкових конгломератів.

Особливо важливим для визначення впливу вогнища пародонтальної інфекції на стан СОПР та букального епітелію зокрема є наявність клітин із елементами цитопатології. До даних ознак із різною частотою, залежно від інтенсивності запального процесу в пародонті, тривалості та клінічного перебігу ГП, належать дистрофічні зміни, а саме вакуолізація цитоплазми. При цьому слід зазначити, що вакуолізація може мати як гідропічний характер, так і жировий. Гідропічні вакуолі численні, більші за розмірами, розміщені перинуклеарно, тоді як дрібні розміщені переважно біля полюсів поверхневих епітеліоцитів, ядра яких гіперхромні та пікнотичні.

Встановлено, що показниками патологічного зсуву в характеристиці цитограм букального епітелію у хворих на ГП були клітини із ознаками дистрофії та некробіотичних змін. Проведений статистичний аналіз клітинного складу дав можливість визначити зміни відсоткового співвідношення букальних епітеліоцитів при ГП: $0 : (3,40 \pm 0,16) : (78,60 \pm 0,50) : (12,50 \pm 0,36) : (6,00 \pm 0,19)$.

Кількісний та якісний клітинний склад зумовлений наявністю в тканинах пародонта запально-дистрофічного процесу. Цифрові дані достовірно відрізняються від стереотипного відсоткового співвідношення диференціації епітеліоцитів багат шарового плоского епітелію щоби за В.Л. Биковим (1998) та співвідношення, визначеного нами для молоді сьогодення, і характеризують порушення диференціації епітеліальних клітин та активацію системи сегментоядерних нейтрофілів з боку сполучнотканинного компонента (табл. 7).

Характеристика змін відсоткового співвідношення різних класів клітин багатошарового плоского епітелію ясен при ГП у осіб обох статей

Показник	Клітинний склад мазків-зішкрябів (%)				
	базальні	парабазальні	проміжні	поверхневі	рогові лусочки
Норма	0	0	59,20±1,15	7,60±0,34	33,20±0,65
ГП	2,20±0,10*	9,30±0,16*	41,60 ±0,36*	37,00±0,31*	9,90±0,16*
Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно з нормою.					

При цьому цитоморфологічна характеристика клітинного складу, за рахунок наявності великої кількості сегментоядерних лейкоцитів різного функціонального стану, відповідає картині хронічного катарального запалення. Наявність видозмінених клітин вказує на можливі напрямки подальших патоморфологічних змін СОПР при ГП. Останнє теоретичне положення спонукало нас розробити прогностичні критерії для передбачення можливих шляхів трансформації запального процесу СОПР, ініційованого тривало існуючим вогнищем пародонтальної інфекції.

А саме, катаральне запалення СОПР, ініційоване реакцією стромы на бактеріальну агресію за рахунок активації системи поліморфноядерних лейкоцитів та дискератозних змін епітелію спричинює в подальшому розвиток патологічних процесів СОПР.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної проблеми, яка полягає у визначенні цитологічних закономірностей диференціювання епітеліальних клітин слизової оболонки порожнини рота в нормі та при генералізованому пародонтиті, як прогностичних та діагностичних критеріїв розвитку патології тканин пародонта на основі з'ясування генетично обумовлених чинників виникнення генералізованого пародонтиту та впровадження комплексного діагностичного підходу до обґрунтування патогенетичних механізмів даної нозології.

1. Встановлено, що зміни кількісних та якісних параметрів букальних і ясенних епітеліоцитів у жінок характеризуються циклічністю залежно від фази менструального циклу. За умов зміни фаз від менструальної до пізньої лютеїнової у клітинному складі щоки та ясен відмічається чіткий «епітеліальний зсув» у сторону термінальної стадії диференціації епітеліоцитів відповідно до топографічної локалізації СОПР та періоду відновлення епітелію конкретної анатомічної ділянки.

2. Визначено, що відсоткове співвідношення парабазальних, проміжних, поверхневих епітеліоцитів та лусочок щоки у жінок в динаміці менструального циклу в нормі складає: $(1,00 \pm 0,12) : (92,53 \pm 1,01) : (6,77 \pm 0,98) : (1,00 \pm 0,26)$, тоді як для ясен цей показник становить: $0 : (58,4 \pm 1,48) : (11,77 \pm 0,83) : (29,14 \pm 0,80)$. Якісні зміни клітин впродовж менструального циклу більш вираженні у ясенних епітеліоцитах, та спостерігалися у середній лютеїновій фазі у вигляді пікнотично змінених та фрагментованих ядер клітин та наявності клітин, тинкторіальні властивості яких відповідають «човноподібним» епітеліоцитам піхви.

3. Встановлена наявність кореляційних зв'язків між показниками кількісних змін букальних та ясенних епітеліоцитів в динаміці менструального циклу, що констатує факт більшої чутливості до гормональної перебудови впродовж менструального циклу ясенних епітеліоцитів. Кількість виявлених прямих кореляційних зв'язків має пряму залежність із вірогідними змінами проміжних епітеліоцитів піхви впродовж циклу, наявні зворотні кореляційні зв'язки є підтвердженням циклічності процесу та впливу гормональної насиченості організму на диференціацію епітеліоцитів.

4. З'ясовано, що у чоловіків в нормі відсоткове співвідношення парабазальних, проміжних, поверхневих епітеліоцитів та рогових лусочок щоки складає: $0 : (92,00 \pm 2,18) : (4,70 \pm 0,19) : (3,30 \pm 0,14)$. Відсоткове співвідношення різних класів епітеліоцитів ясен для даного контингенту осіб становить: $0 : (59,2 \pm 1,16) : (7,6 \pm 0,43) : (33,2 \pm 0,88)$. Переважання зрілих форм епітеліоцитів забезпечує здійснення бар'єрної функції щоки. Букальний і ясенний епітелій проявляє статевий диморфізм. Він проявляється у більшому відсотку рогових лусочок і поверхневих клітин (при $p < 0,05$) та дещо меншому – проміжних, у чоловіків (при $p < 0,05$). Також у чоловіків менше число клітин з ознаками деструкції і високим ступенем мікробної контамінації (при $p < 0,05$).

5. У клітинах базального та проміжного шарів епітелію ясенної борозни визначаються високий та помірний ступені експресії маркера Ki-67, що відображає високу функціональну активність даних клітин. Ультраструктурна організація клітин, завдяки наявності тонофіламентів та тонофібрил, формує, особливий каркас. Визначено, що епітелій пародонтальних кишень характеризується порушенням зроговіння у вигляді дискератозу внаслідок тривалої запальної реакції у власній пластинці. У грануляційній тканині пародонтальних кишень, яка утворилася внаслідок запального процесу, визначається високий ступінь експресії маркера VEGF, оскільки у ході прогресування ГП у грануляційній тканині формується її певний ангіогенний потенціал.

6. Виявлена наявність кореляційних зв'язків частоти загострень ГП із імуногістохімічним профілем клітинних інфільтратів власної пластинки ясен

при ГП. Максимальне значення коефіцієнта кореляції ($r=0,91$) асоціюється з CD-20 імуногістохімічним профілем та вірогідністю частоти загострень 5 разів на рік. Визначено наявність кореляції між CD-3 імуногістохімічним профілем та частотою загострень 3 рази на рік ($r=0,58$) та кореляції між CD-4 імуногістохімічним профілем і частотою загострень 1 раз на рік ($r=0,51$). Систематизовано ГП осіб обстеженого контингенту на «стабільний», з частотою загострень один раз на рік та CD-4 імуногістохімічним профілем; «умовно стабільний», з частотою загострень 3 рази на рік та CD-3 імуногістохімічним профілем; «прогресуючий», з частотою загострень 5 разів на рік та CD-20 імуногістохімічним профілем.

7. Розподіл поліморфних варіантів гену ТФ NF- κ B1 у хворих на ГП із генотипом (Del/Del) складає (16 %), із генотипом (Del/Ins) відповідно (55 %) та (Ins/Ins) (29 %) осіб. Патогенетичні механізми виникнення ГП у осіб із генотипом (Del/Ins) пов'язані із імуногістохімічним профілем індивідуума та наявною супутньою соматичною патологією ($r=0,60$), а також шкідливою звичкою і індексом РМА ($r=0,17$), що вказує на безпосередню роль даних параметрів у виникненні та розвитку ГП. Доведено вплив комплексу екзогенних та місцевих патогенних чинників, які ініціюють розвиток індукованого ГП, враховуючи можливі шляхи активації NF- κ B1, що сприяє появі чи посилює перебіг патологічних реакцій у тканинах пародонта.

8. З'ясовано, що генотип (Del/Del) є незмінним і визначальним фактором, що обумовлює розвиток ГП. Тобто, незалежно від того, як змінюються показники, в даному випадку генотип (Del/Del) є головним, незмінним і визначальним фактором, що обумовлює розвиток ГП, клінічна картина якого відповідає ШПП. Патогенетичні механізми розвитку ГП у осіб із поліморфним варіантом ТФ (Ins/Ins) несуть генетичну складову, проте особливості його клінічних проявів є більш доброякісними та характеризуються хронічним тривалим перебігом, порівняно із поліморфним варіантом (Del/Del).

9. Розподіл поліморфних варіантів гену ТФ NF- κ B1 у пацієнтів із інтактним пародонтом із генотипом (Del/Del) склав (11 %), із генотипом (Del/Ins) – (51 %), із генотипом (Ins/Ins) – (38 %) осіб. Встановлено, що визначені поліморфні варіанти гену ТФ NF- κ B1 дають можливість визначення і формування груп ризику щодо захворюваності на ГП. Контингент осіб з генотипом (Del/Del) потребує диспансерного нагляду. Особи з поліморфним варіантом ТФ NF- κ B1 (Del/Ins) складають групу ризику, у випадку наявності шкідливих звичок та супутньої соматичної патології, що є предикторами для розвитку індукованого ГП на тлі судинних розладів власної пластинки ясен. Особи із поліморфним варіантом ТФ NF- κ B1 (Ins/Ins), складають групу ризику у випадку впливу місцевих несприятливих факторів та наявних зубо-щелепних аномалій і деформацій.

10. Відсоткове співвідношення букальних епітеліоцитів при ГП складає – 0 : (3,40±0,16) : (78,60±0,50) : (12,50±0,36) : (6,00±0,19). Цитологічна характеристика клітинного складу, за рахунок наявності великої кількості сегментоядерних лейкоцитів різного функціонального стану, відображає хронічне катаральне запалення СОПР, зумовлене наявністю в тканинах пародонта запального процесу.

11. Доведено, що вогнище пародонтальної інфекції ініціює цитоспецифічні кількісні та якісні зміни клітинного складу букального епітелію. Останні створюють передумови для розвитку патологічних процесів на СОПР, пов'язаних із порушенням кератинізації в бік гіпер- та паракератозу та ініціюють розвиток хвороб пов'язаних із системним запаленням. При цьому індикаторами патологічного зсуву виступають клітини із ознаками подразнення, дистрофії та некробіотичних змін.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Визначене відсоткове співвідношення різних класів епітеліоцитів ясен та щоки, із урахуванням гендерного аспекту, рекомендуємо використовувати як показники норми при проведенні диференційної діагностики первинних та вторинних уражень СОПР та забезпечення динамічного спостереження за ефективністю призначеного лікування.
2. Запропонований комплексний цитологічний та цитохімічний аналіз рекомендуємо застосовувати з метою об'єктивізації патологічних та функціональних змін СОПР у підлітків, жінок клімактеричного періоду та за умов розвитку дисгормональних процесів у організмі, що підвищує ефективність ранньої об'єктивної діагностики патологічних процесів.
3. Вірогідність загострень ГП рекомендуємо прогнозувати за допомогою розробленого нами способу комплексного цитологічного вивчення клітинного складу пародонтальних кишень. З метою прогнозування клінічного перебігу ГП доцільно проводити дослідження запальних інфільтратів власної пластинки ясен із застосуванням імуногістохімічних маркерів CD-3, CD-4 та CD-20.
4. Розроблені методичні рекомендації для практичних лікарів, які містять алгоритми обстеження пародонтологічних пацієнтів стосовно методик забору матеріалу для цитологічного та гістологічного досліджень, а також щодо специфіки регіонарних особливостей будови СОПР.
5. Рекомендуємо, генотип (Del/Del) вважати предиктором ШПП у обстеженого контингенту осіб та враховувати при плануванні профілактичних і лікувальних заходів.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ СТАТТІ, ОПУБЛІКОВАНІ У ФАХОВИХ ВИДАННЯХ

1. Гасюк Н.В. Сучасні уявлення про етіологію та патогенез хвороб пародонта / Н.В. Гасюк, Г.А. Єрошенко, О.В. Палій // Світ медицини і біології. – 2012. – № 2 (38). – С. 203–207. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз) (Особисто здобувачем проведено опрацювання періоджерел, формулювання висновків та оформлення роботи).*
2. Гасюк Н.В. Особливості ультраструктурної будови епітелію ясеневої борозни / Н.В. Гасюк, М.Б. Худякова, С.Б. Герасименко // Вісник Української медичної стоматологічної академії: Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2013. – Т. 13, випуск 2 (42). – С. 189–192. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз) (Особисто здобувачем проведений забір матеріалу для електронно-мікроскопічного дослідження, аналіз та узагальнення результатів, формулювання висновків).*
3. Гасюк Н.В. Структура та поширеність хвороб пародонта у осіб молодого віку / Н.В. Гасюк // Південноукраїнський медичний журнал. – 2013. – № 3 (03). – С. 36–37.
4. Гасюк Н.В. Цитофункціональна характеристика представництва мастоцитів у яснах хворих на генералізований пародонтит / Гасюк Н.В., Єрошенко Г.А., Іваницький І.О. [та інш.] // Світ медицини і біології. – 2013. – № 4 (41). – С. 66–68. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз) (Особисто здобувачем проведени забір матеріалу для гістологічного дослідження, виготовлення зрізів, узагальнення результатів, формулювання висновків, оформлення роботи).*
5. Гасюк Н.В. Гістологічна характеристика пародонтальних кишень / Н.В. Гасюк // Клінічна стоматологія. – 2014. – № 3. – С. 9–12.
6. Гасюк Н.В. Гістологічна характеристика ясен за умов ураження симптоматичним гінгівітом при пародонтиті / Н.В. Гасюк // Світ медицини і біології. – 2014. – № 3. – С. 107–109. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз)*
7. Гасюк Н.В. Імуногістохімічна характеристика клітинних інфільтратів власної пластинки ясен при пародонтиті / Н.В. Гасюк // Медична хімія. – 2014. – Т. 16, № 3 (60). – С. 78–81.
8. Гасюк Н.В. Гістофункціональна характеристика епітелію ясеневої борозни / Н.В. Гасюк // Інновації в стоматології. – 2014. – № 3 (5). – С. 40–43.
9. Гасюк Н.В. Характеристика каріометричних показників епітелію ясеневої борозни в нормі / Н.В. Гасюк // Вісник наукових досліджень. – 2014. – № 4 (77). – С. 75–77.
10. Gasyuk N.V. Feature of cellular composition of the gums in generalized periodontitis / N.V. Gasyuk, G.A. Yeroshenko // Світ медицини і біології. – 2015. –

№ 1 (48). – С. 17–20. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз) (Особисто здобувачем проведено забір матеріалу для цитологічного дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, формулювання висновків, оформлення роботи).*

11. Гасюк Н.В. Характеристика клітинного складу букального епітелію осіб молодого віку, хворих на генералізований пародонтит / Н.В. Гасюк // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Вип. 1 (117). – С. 221–226. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз).*

12. Гасюк Н.В. Цитологічна характеристика епітелію піхви жінок молодого віку в залежності від фази менструального циклу / Н.В. Гасюк // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Вип. 2, Т. 1 (118). – С. 228–232. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз).*

13. Гасюк Н.В. Цитологічна і цитохімічна характеристика процесів диференціації букального епітелію в осіб чоловічої статі молодого віку в нормі / Н.В. Гасюк // Медична хімія. – 2015. – Т. 17, № 1 (62). – С. 61–65.

14. Гасюк Н.В. Характеристика клітинного складу цитограм ясен хворих на генералізований пародонтит / Н.В. Гасюк // Клінічна стоматологія. – 2015. – № 1. – С. 6–14.

15. Гасюк Н.В. Комплексна цитологічна характеристика перебігу процесу диференціації букального у осіб жіночої статі молодого віку залежно від фази менструального циклу / Н.В. Гасюк // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Вип. 2, Т. 2 (119). – С. 33–36. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз).*

16. Гасюк Н.В. Статистичне обґрунтування компенсаторних механізмів епітелію ясен в умовах ніотинової інтоксикації / Н.В. Гасюк // Медична інформатика та інженерія. – 2015. – № 1 (29). – С. 42–45.

17. Гасюк Н.В. Патогенетичні механізми цитологічної перебудови слизової оболонки порожнини рота у хворих на генералізований пародонтит / Н.В. Гасюк // Вісник наукових досліджень. – 2015. – № 1 (78). – С. 63–66.

18. Гасюк Н.В. Патогенетичні механізми передпухлинної цитотрансформації слизової оболонки порожнини рота в умовах ніотинової інтоксикації / Н.В. Гасюк, Г.А. Єрошенко // Шпитальна хірургія. – 2015. – № 1 (69). – С. 64–68. *(Особисто здобувачу належить ідея роботи, аналіз та узагальнення отриманих результатів, формулювання висновків).*

19. Гасюк Н.В. Шляхи оптимізації діагностичного процесу та прогностичних критеріїв клінічного перебігу генералізованого пародонтиту / Н.В. Гасюк // Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. – 2015. – № 1 (63). – С. 25–31.

20. Гасюк Н.В. Особливості перебігу процесу диференціації ясенного епітелію в динаміці менструального циклу / Н.В. Гасюк, Г.А. Єрошенко // Світ медицини

і біології. – 2015. – № 2. – С. 13–16. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз) (Особисто здобувачу належить ідея роботи, аналіз та узагальнення отриманих результатів, формулювання висновків).*

21. Yeroshenko G.A. / Features of cytological reorganization of gums in the course of generalized periodontitis / G.A. Yeroshenko, N.V. Gasyuk, O.D.Lisachenko // Актуальні питання медичної науки і практики. . – 2015. – вип.82, том 2, книга 2. – С.284–291.*(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз) (Особисто здобувачу належить ідея роботи, аналіз та узагальнення отриманих результатів, формулювання висновків).*

22. Гасюк Н.В. Роль поліморфізму ядерного фактора транскрипції NF-κB1 у патогенезі генералізованого пародонтиту / Н.В. Гасюк, // Світ медицини і біології. – 2015. – № 3. – С. 28–31. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз).*

23. Гасюк Н.В. Характеристика поліморфних варіантів ядерного фактора транскрипції NF-κB1 як предикторів розвитку генералізованого пародонтиту / Н.В. Гасюк, Г.А. Єрошенко // Галицький лікарський вісник. – 2015. – № 3 (частина 1). – С. 13–16. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз) (Особисто здобувачу належить ідея роботи, аналіз та узагальнення отриманих результатів, формулювання висновків).*

24. Гасюк Н.В. Эпителиоциты ротовой полости как маркеры молекулярно-генетических исследований / Н.В. Гасюк, О.Н. Бойченко, С.Б. Герасименко // Математическая морфология. Электронный математический медико-биологический журнал. – 2013. – Т. 12. – Вып. 2. Режим доступа до ресурсу: <http://www.smolensk.ru/user/sgma/MMORPH/N-38-html/cont.htm>. *(Особисто здобувачем проведено опрацювання першоджерел, формулювання висновків та оформлення роботи).*

25. Гасюк Н.В. Иммуногистоспецифичность клеточных инфильтратов собственной пластинки десны при пародонтите / Н.В. Гасюк // Актуальные вопросы формирования здорового образа жизни, профилактики заболеваний и укрепления здоровья. – 2014. – № 3. – С. 20–22. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз).*

26. Гасюк Н.В. Характеристика системы местного иммунитета собственной пластинки десны при пародонтите / Н.В. Гасюк // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2014. – Т. 17, № 2. – С. 68–70. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз)*

27. Гасюк Н.В. Сравнительная характеристика течения процесса дифференциации буккального эпителия в гендерном аспекте / Н.В. Гасюк // Медицинский академический журнал. – 2015. – Т. XV, № 1. – С. 68–72. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз)*

28. Гасюк Н.В. Влияние очага пародонтальной инфекции на качественный и количественный состав буккальных эпителиоцитов / Н.В. Гасюк // Медицина в Кузбассе. – 2015. – Т. XIV, № 1. – С. 48–51. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз)*

29. Гасюк Н.В. Особенности системы местного иммунитета собственной пластинки десны в условиях поражения симптоматическим катаральным гингивитом при пародонтите / Н.В. Гасюк, П.А. Гасюк // Математическая морфология. Электронный математический и медико-биологический журнал. – 2015. – Т. 14. – Вып. 1. Режим доступа до ресурсу: <http://www.smolensk.ru/user/sgma/MMORPH/N-38-html/cont.htm>. *(Особисто здобувачем проведено узагальнення отриманих результатів, формулювання висновків та оформлення роботи).*

ПАТЕНТИ, МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ТА ІНШЕ

30. Гасюк Н.В. Спосіб прогнозування клінічного перебігу генералізованого пародонтиту / Н.В. Гасюк, П.А. Гасюк // Деклараційний патент України на корисну модель, Україна, МПК G01N 33/48. – № u 2014 10622 ; заявл. 29.09.2014 ; опубл. 10.04.2015, бюл. № 7. *(Особисто здобувачем проведено патентно-інформаційний пошук, опрацювання першоджерел, комплексне імуногістохімічне обґрунтування, розробку та апробацію способу діагностики, оформлення заявки на деклараційний патент).*

31. Гасюк Н.В. Спосіб визначення вірогідності загострень генералізованого пародонтиту за допомогою комплексного цитологічного аналізу / Н.В. Гасюк, Г.А. Єрошенко // Деклараційний патент України на корисну модель, Україна, МПК G01N 33/48. – № u 2014 10641 ; заявл. 29.09.2014 ; опубл. 10.04.2015, бюл. № 7. *(Особисто здобувачем проведено патентно-інформаційний пошук, опрацювання першоджерел, комплексне цитологічне обґрунтування, розробку та апробацію способу діагностики, оформлення заявки на деклараційний патент).*

32. Гасюк Н.В. Застосування морфологічних методів дослідження в діагностиці дерматозів із аутоімунним компонентом у стоматології : методичні рекомендації / Н.В. Гасюк : Методичні рекомендації. – К., 2014. – 26 с.

33. Гасюк Н.В. Застосування морфологічних методів дослідження у діагностиці та прогнозуванні клінічного перебігу генералізованого пародонтиту / Н.В. Гасюк, Г.А. Єрошенко : Методичні рекомендації. – К., 2015. – 22 с. *(Особисто здобувачем проведено патентно-інформаційний пошук, опрацювання першоджерел, комплексне цитологічне обґрунтування, імуногістохімічне та статистичне обґрунтування доцільності розробки та апробацію алгоритму оформлення супровідної документації).*

ТЕЗИ ДОПОВІДЕЙ ТА ІНШЕ

34. Гасюк Н.В. Система місцевого захисту епітелію ясеневі борозни / Н.В. Гасюк // Матеріали науково-практичної конференції «Інноваційні технології в стоматології». – Тернопіль, 2014 // Клінічна стоматологія. – 2014. – № 3. – С. 43–44.
35. Мошель Т.М. Характеристика клітинного складу мазків пародонтальних кишень / Т.М. Мошель, Н.В. Гасюк, Г.А. Єрошенко // Матеріали конференції, присвяченої 90-річчю ВДНЗ України «УМСА». – Полтава, 2011. – Проблеми екології та медицини. – 2011. – Т. 15, № 3–4, (додаток 1). – С. 114–115. *(Особисто здобувачем проведені забір матеріалу для дослідження, цитологічний аналіз, узагальнення результатів, формулювання висновків).*
36. Гасюк Н.В. Характеристика клітинного складу мазків відбитків осіб чоловічої статі молодого віку / Н.В. Гасюк, Г.А. Єрошенко // Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні проблеми сучасної морфології» присвяченої 75-ій річниці з Дня народження М.С. Скрипнікова. – Полтава, 2011. // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – №. 2, Т. 1. – С. 292. *(Особисто здобувачем проведені забір матеріалу, цитологічний аналіз, узагальнення результатів, формулювання висновків).*
37. Гасюк Н.В. Характеристика клітинного складу мазків-відбитків щоби осіб жіночої статі молодого віку / Н.В. Гасюк, Г.А. Єрошенко // Матеріали науково-практичної конференції «Морфологічні аспекти мікроциркуляції в нормі та патології». – Тернопіль, 2011. – С. 79–81. *(Особисто здобувачем проведені забір матеріалу, цитологічний аналіз, узагальнення результатів, формулювання висновків).*
38. Гасюк Н.В. Характеристика клітинного складу пародонтальних кишень при пародонтиті в стадії загострення / Н.В. Гасюк, П.А. Гасюк // Матеріали V науково-практичної конференції «Інноваційні технології в стоматології». – Тернопіль, 2013 // Клінічна стоматологія. – 2013. – № 3, 4. – С. 56. *(Особисто здобувачем проведені забір матеріалу, цитологічне вивчення, узагальнення результатів, формулювання висновків).*
39. Гасюк Н.В. Характеристика якісного та кількісного складу мастоцитів у яснах хворих на пародонтит // Н.В. Гасюк, І.О. Іваницький, В.Р. Мачоган // Збірник матеріалів Всеукраїнської науково-практичної конференції «Морфологічні аспекти ангіології». – Тернопіль, 2013. – С. 23–24. *(Особисто здобувачем проведені забір матеріалу для гістологічного дослідження, виготовлення зрізів, узагальнення результатів, формулювання висновків).*
40. Гасюк Н.В. Цитофункціональні особливості складу мастоцитів десен больных пародонтитом / Н.В. Гасюк, П.А. Гасюк // Сборник научных статей III региональной научно-практической конференции с международным участием по детской стоматологии, посвященной 25-летию кафедры СДВ «Актуальные

проблемы стоматологии детского возраста». – Хабаровск, 2013. – С. 52–54. *(Особисто здобувачем проведені виготовлення зрізів, узагальнення результатів, формулювання висновків, оформлення роботи).*

41. Гасюк Н.В. Особенности клеточного состава десен больных пародонтитом / Н.В. Гасюк, О.Н. Бойченко // Материалы научной конференции студентов-медиков с международным участием «Актуальные вопросы медицинской науки». – Самарканд, 2014. – С. 21–22. *(Особисто здобувачем проведені забір матеріалу для гістологічного дослідження, виготовлення зрізів, узагальнення результатів, формулювання висновків, оформлення роботи).*

42. Gasyuk N.V. Characteristics of cellular composition of periodontal pockets / N.V. Gasyuk // Збірник матеріалів конгресу «Scientific resources management of countries and regions». – 2014, Copenhagen, (Denmark). – P. 149–151.

43. Gasyuk N.V. Features cellular composition ash with periodontitis / N.V. Gasyuk // Збірник матеріалів конгресу «Global Scientific unity 2014». –Prague (Czech Republic), 2014. – P. 33–34.

44. Гасюк Н.В. Особенности змін клітинного складу цитограм ясен осіб молодого віку хворих на генералізований пародонтит хронічного перебігу / Н.В. Гасюк, Г.А. Єрошенко, С.Б. Герасименко // Матеріали науково-практичної інтернет-конференції «Актуальні проблеми», присвяченої 110-й річниці з дня народження Е.Д. Бромберг. – 2014, Полтава. – С. 22–23. *(Особисто здобувачем проведені забір матеріалу для цитологічного дослідження, комплексний аналіз та узагальнення результатів, формулювання висновків).*

45. Гасюк Н.В. Патогенетичні механізми цитологічної перебудови слизової оболонки порожнини рота в умовах нікотинової інтоксикації / Н.В. Гасюк // Матеріали IV міжнародної стоматологічної конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання сучасної стоматології». – Ужгород, 2015. – С. 104–107.

46. Гасюк Н.В. Аспекты цитологической перестройки букального эпителия в условиях никотиновой интоксикации / Н.В. Гасюк, О.Н. Бойченко // Материалы научной конференции студентов-медиков с международным участием «Вопросы современной медицинской науки». – Самарканд, 2015. – С. 103. *(Особисто здобувачем проведені забір матеріалу для цитологічного дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, формулювання висновків, оформлення роботи).*

47. Гасюк Н.В. Особенности перебігу процесу диференціації букального епітелію у осіб жіночої статі молодого віку залежно від фази менструального циклу / Н.В. Гасюк, Г.А. Єрошенко // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Теоретичні та практичні проблеми розвитку сучасної медичної науки». – Одеса, 2015. – С. 42–44. *(Особисто здобувачем проведені*

забір матеріалу, цитологічне вивчення, узагальнення результатів, формулювання висновків).

48. Гасюк Н.В. Влияние очага пародонтальной инфекции на качественный состав буккальных эпителиоцитов / Н.В. Гасюк, С.Б. Герасименко // Материалы XVIII международной медико-биологической конференции молодых исследователей, посвященной двадцатилетию медицинского факультета СПбГУ. – Санкт-Петербург, 2015. – С. 131. *(Особисто здобувачем проведені забір матеріалу, цитологічне дослідження, узагальнення отриманих результатів, формулювання висновків та оформлення роботи).*

АНОТАЦІЯ

Гасюк Н. В. Цитологічні і цитогенетичні особливості слизової оболонки порожнини рота людини в нормі та при запальному процесі. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.09 – гістологія, цитологія, ембріологія. – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, 2015.

У дисертаційній роботі визначені індивідуальні регіонарні показники особливостей процесу диференціації епітеліальних клітин СОПР у здорових осіб та в гендерному аспекті, як теоретичного підґрунтя для розуміння перебудови СОПР при запальних процесах тканин пародонта. В роботі показано, що генотип (Del/Del), як поліморфний варіант гену ядерного фактора транскрипції ТФ NF-κB1, достовірно пов'язаний з виникненням ШПП в осіб молодого віку. Представлено відсоткові співвідношення різних класів ясенних та буккальних епітеліоцитів у гендерному аспекті. Встановлено, що в ясенній борозні функціонують два рівні місцевого захисту: внутрішньоепітеліальний та сполучнотканинний. Перший забезпечується інтраепітеліальними нейтрофільними гранулоцитами, другий – сулькулярно-асоційованою лімфоїдною тканиною. За даними аналізу клітинного складу інфільтратів власної пластинки ясен систематизовано ГП на «стабільний», «умовно-стабільний» та «прогресуючий». Визначені шляхи трансформації запального процесу СОПР, ініційованого тривало існуючим вогнищем пародонтальної інфекції, його впливу на клітинному, органному та організмовому рівні та з'ясовано спільні патоморфологічні ланцюги ГП та хвороб, які пов'язані із системним запаленням.

Ключові слова: слизова оболонка порожнини рота, клітинний склад, пародонтит, поліморфізм.

АННОТАЦИЯ

Гасюк Н. В. Цитологические и цитогенетические особенности слизистой оболочки полости рта человека в норме и при воспалительном процессе. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.09 – гистология, цитология, эмбриология. – Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, 2015.

Осуществлен системный анализ цитологических закономерностей дифференцировки эпителиальных клеток слизистой оболочки полости рта в норме и при ГП. Установлено, что изменения количественных и качественных параметров буккальных и десневых эпителиоцитов у женщин характеризуются цикличностью в зависимости от фазы менструального цикла. Определено наличие корреляционных связей между показателями количественных изменений буккальных и десневых эпителиоцитов в динамике менструального цикла, что свидетельствует о большей чувствительности десневых эпителиоцитов к гормональной перестройке.

В клетках базального и промежуточного слоев эпителия десневой борозды определяются высокая и умеренная степень экспрессии маркера Ki-67, что отражает высокую функциональную активность данных клеток. Ультраструктурная организация клеток, благодаря наличию тонофиламентов и тонофибрилл, формирует особый каркас, который амортизирует при механических нагрузках. Установлено, что эпителий пародонтальных карманов характеризуется нарушением ороговения в виде дискератоза вследствие длительной воспалительной реакции в собственной пластинке. В грануляционной ткани пародонтальных карманов определяется высокая степень экспрессии маркера VEGF, поскольку в ходе прогрессирования ГП в грануляционной ткани формируется ее определенный ангиогенный потенциал.

Выявлено наличие корреляционных связей частоты обострений ГП с иммуногистохимическим профилем клеточных инфильтратов собственной пластинки десны при ГП. Максимальное значение коэффициента корреляции ($r=0,91$) ассоциируется с CD-20 иммуногистохимическим профилем и вероятностью частоты обострений 5 раз в год. Определено наличие корреляции между CD-3 иммуногистохимическим профилем и частотой обострений 3 раза в год ($r=0,58$), корреляции между CD-4 иммуногистохимическим профилем и частотой обострений 1 раз в год ($r=0,51$). Систематизирован ГП у лиц обследованного контингента на «стабильный», с частотой обострений один раз в год и CD-4 иммуногистохимическим профилем; «условно–стабильный», с частотой обострений 3 раза в год и CD-3 иммуногистохимическим профилем;

«прогрессирующий», с частотой обострений 5 раз в год и CD-20 иммуногистохимическим профилем.

Распределение полиморфных вариантов гена ТФ NF-κB1 у больных ГП с генотипом (Del/Del) составляет (16%), с генотипом (Del/Ins) соответственно (55%) и (Ins/Ins) (29%) человек. Патогенетические механизмы возникновения ГП у лиц с генотипом (Del/Ins) связаны с иммуногистохимическим профилем индивидуума и имеющейся сопутствующей соматической патологией ($r=0,60$), а также вредной привычкой и индексом РМА ($r=0,17$), что указывает на непосредственную роль данных параметров в возникновении и развитии ГП. Доказано влияние комплекса экзогенных и местных патогенных факторов, которые инициируют развитие индуцированного ГП, учитывая возможные пути активации ТФ NF-κB1, что способствует появлению или усугубляет течение патологических реакций в тканях пародонта.

Распределение полиморфных вариантов гена ТФ NF-κB1 у пациентов с интактным пародонтом с генотипом (Del/Del) составило (11%), с генотипом (Del/Ins) – (51%), с генотипом (Ins/Ins) – (38%). Установлено, что определенные полиморфные варианты гена ТФ NF-κB1 дают возможность определения и формирования групп риска по заболеваемости ГП. Контингент лиц с генотипом (Del/Del) требует диспансерного наблюдения. Лица с полиморфным вариантом ТФ NF-κB1 (Del/Ins) составляют группу риска, в случае наличия сопутствующей соматической патологии. Данный генотип является предиктором для развития индуцированного ГП на фоне сосудистых расстройств собственной пластинки десны. Лица с полиморфным вариантом ТФ NF-κB1 (Ins/Ins), составляют группу риска в случае влияния местных неблагоприятных факторов и имеющихся зубочелюстных аномалий и деформаций.

Процентное соотношение буккальных эпителиоцитов при ГП составляет – 0: ($3,40 \pm 0,16$): ($78,60 \pm 0,50$): ($12,50 \pm 0,36$): ($6,00 \pm 0,19$). Цитологическая характеристика клеточного состава, за счет наличия большого количества сегментоядерных лейкоцитов различного функционального состояния, отражает хроническое катаральное воспаление слизистой оболочки полости рта, обусловленное наличием в тканях пародонта воспалительного процесса.

Доказано, что очаг пародонтальной инфекции инициирует цитоспецифические количественные и качественные изменения клеточного состава буккального эпителия. Последние создают предпосылки для развития патологических процессов на СОПР, связанных с нарушением кератинизации в сторону гипер- и паракератоза и инициируют развитие болезней связанных с системным воспалением. Индикаторами патологических изменений являются клетки с признаками раздражения, дистрофии и некробиотических изменений.

Ключевые слова: слизистая оболочка полости рта, клеточный состав, пародонтит, полиморфизм.

SUMMARY

Gasyuk N.V. Cytological and cytogenetic features of the normal human oral mucosa and in the inflammatory process. – Manuscript.

Doctoral thesis in Medicine on Specialty 14.03.09 – Histology, Cytology, Embryology. – O.O. Bogomolets National Medical University, Kiev, 2015.

The thesis defined individual regional indices of the features of the process of differentiation of oral mucosa epithelial cells in healthy people and in gender aspect as the theoretical basis for understanding of oral mucosa transformation in the inflammatory processes of periodontal tissues. It is shown that (Del/Del) genotype as a polymorphous version of the TF NF- κ B1 transcription nuclear factor gene, is reliably connected with the occurrence of the fast progressing periodontitis in young age. It presents the percentage ratio of the different classes of gingival and buccal epithelial cells in the gender aspect. It has been established that two levels of local protection are functioning in the gingival sulcus: intraepithelial and connective-tissue. The first level is provided by the intraepithelial neutrophilic granulocytes, and the second one is provided by the succulent-associated lymphoid tissue. The analysis of the cellular composition of the gingival proper lamina infiltrates contributed to systematization of generalized periodontitis to “persistent”, “conditionally persistent” and “progressing”. The ways of transformation of the oral mucosa inflammatory process, initiated by the long-existing focus of parodontal infection, its impact on the cellular, organ and organismic levels have been defined and common pathomorphological chains of generalized periodontitis and diseases, associated with systemic inflammation, have been clarified.

Keywords: oral mucosa, cellular composition, periodontitis, polymorphism.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

СОПР – слизова оболонка порожнини рота;

ГП – генералізований пародонтит;

TNF- α – туморнекротичний фактор-альфа;

ТФ – транскрипційний фактор;

ШПП – швидкопрогресуючий пародонтит;

VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor (фактор росту ендотеліальних клітин);

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція.