

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**МАТВЄЄНКО ЛЮБОВ МИКОЛАЇВНА**

УДК 616.314.17:616.379-008.64]-036-092.9-085:615.728

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ОСТЕОТРОПНОЇ  
ТЕРАПІЇ ГЕНЕРАЛІЗОВАНОГО ПАРОДОНТИТУ В ХВОРИХ ІЗ  
КОМПЕНСОВАНОЮ ФОРМОЮ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2-ТИПУ**

22 – Охорона здоров'я

221 – Стоматологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

\_\_\_\_\_Любов МАТВЄЄНКО

Науковий керівник – **Самойленко Андрій Валерійович**,  
доктор медичних наук, професор

Дніпро – 2023

## АНОТАЦІЯ

*Матвєєнко Л. М. Клініко-експериментальне обґрунтування остеотропної терапії генералізованого пародонтиту в хворих із компенсованою формою цукрового діабету 2 типу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.*

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 – Охорона здоров'я, зі спеціальності 221 - Стоматологія. – Дніпровський державний медичний університет, Дніпро, 2023.

Найбільш важкими та складними в лікуванні симптомами генералізованого пародонтиту на тлі цукрового діабету є зміни в кістковій тканині пародонта. Звідси існує потреба в специфічній остеотропній терапії, яка здатна нормалізувати обмінні процеси в альвеолярній кістці. В свою чергу, препарати стронцію натеper розглядаються як найбільш перспективні щодо підвищення остеогенної активності. Стронцію ранелат використовують для лікування остеопорозу завдяки його антирезорбтивній та остеонаболічній дії. Однак його ефективність щодо альвеолярної кістки вивчена недостатньо.

Таким чином, метою даного дослідження є підвищення ефективності комплексного лікування генералізованого пародонтиту в хворих із компенсованою формою цукрового діабету 2 типу шляхом клініко-експериментального обґрунтування остеотропної терапії захворювання.

Для виконання поставленої мети робота проводилась у два етапи. На першому (експериментальному) етапі для обґрунтування доцільності доповнення остеотропної терапії препаратами стронцію його вплив на тканини пародонта вивчали на моделі пародонтиту, що перебігав на тлі цукрового діабету, відтвореної на щурах, із застосуванням методів комп'ютерної томографії, атомно-емісійної спектроскопії та гістологічного, зокрема імуногістохімічного, дослідження. На другому етапі виконання дисертаційного дослідження проводили клінічну апробацію розробленої на підставі отриманих результатів експериментального дослідження схеми комплексного лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням остеотропної терапії, доповненої стронцієм ранелатом.

Для проведення експерименту розроблений оригінальний спосіб моделювання пародонтиту з ураженням сполучної тканини пародонта, що включає введення щурам нікотинаміду одноразово внутрішньочеревно у вигляді водного розчину із розрахунку 230 мг на кг маси щура і через 15 хвилин після цього стрептозотоцину у дозі 65 мг/кг у вигляді 5% розчину в цитратному буфері (рН 4,5), після чого через 6 діб з питною водою введення ксенобіотику пеніциламіну.

Перш за все, було досліджено вплив стронцію ранелату на втрату альвеолярної кістки в щурів з експериментальним діабетом. Дослідження кісткової тканини проводили на 24 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 230-250 г, розділених на три однакові групи по 8 тварин (у першу групу увійшли тварини з експериментальним цукровим діабетом 2 типу, наслідком застосування стрептозотоцину, у другій групі додатково відтворювали пародонтит введенням пеніциламіну, а в третій групі додатково до усіх зазначених препаратів застосовували стронцію ранелат, внутрішньошлунково в дозі 250 мг/кг один раз на добу протягом останніх 28 діб експерименту), та на 6 інтактних тваринах.

Було проведено порівняльне дослідження мінеральної щільності та хімічного складу кісткової тканини нижньої щелепи щурів при моделюванні генералізованого пародонтиту, який розвивається на тлі метаболічних порушень при цукровому діабеті 2 типу, та після застосування стронцію ранелату.

Так, за даними комп'ютерної томографії встановлено, що в контрольній групі середні значення мінеральної щільності становлять  $1450,0 \pm 125,0$  HU, у першій групі –  $1320,0 \pm 120,0$  HU ( $p > 0,05$ ), у другій –  $1100,0 \pm 110,0$  HU ( $p < 0,05$ ), у третій –  $1400,0 \pm 137,0$  HU ( $p > 0,05$ ). Отже, найбільш виражене зниження мінеральної щільності спостерігалось при спільному застосуванні нікотинаміду, стрептозотоцину та пеніциламіну, тоді як стронцію ранелат сприяв нормалізації цього показника.

За даними атомно-емісійної спектроскопії індекс мінералізації – співвідношення кальцій/фосфор – становив 1,14 у контрольній групі, 1,05 – у першій групі, 1,0 – у другій та 1,26 – у третій. Вміст стронцію в зразках третьої групи перевищував контрольні значення майже вдвічі ( $p < 0,001$ ) порівняно зі значним

його зниженням у зразках першої та другої груп ( $p < 0,05$ ). Збільшення вмісту стронцію призводило до зменшення вмісту інших елементів, що пояснюється конкурентним заміщенням у кристалах апатиту. Таким чином, стронцію ранелат продемонстрував здатність до активації процесів ремінералізації кісткової складової пародонта.

За результатами гістоморфометричного дослідження у зразках нижніх щелеп тварин другої групи явища остеопорузу були найбільш значущими, тоді як для третьої групи значення середньої питомої площі міжкореневої губчастої кістки наближувалися до зразків контролю. У контрольній групі кількість остеокластів становила  $2,24 \pm 1,41$  клітин на  $\text{мм}^2$ , у першій групі –  $4,34 \pm 1,37$  клітин на  $\text{мм}^2$ , у другій –  $2,96 \pm 1,26$  клітин на  $\text{мм}^2$  та в третій –  $2,24 \pm 1,41$  клітин на  $\text{мм}^2$  ( $p > 0,05$ ). Зразки третьої групи мали найбільш виразні процеси остеогенезу та найбільш інтенсивну експресію остеопонтину, як у трабекулярній, так і в компактній кістковій тканині. Таким чином, за нашими спостереженнями, застосування стронцію ранелату достовірно уповільнювало процеси резорбції кісткової тканини шляхом пригнічення остеокластів та активації остеобластів.

Як підсумок результатів проведеного експерименту, модель цукрового діабету 2 типу, заснована на застосуванні стрептозотоцину, демонструє незначну резорбцію альвеолярної кістки, яка може посилюватися прозапальними стимулами, зокрема застосуванням пеніциламіну. Це призводить до достовірного зниження мінеральної щільності та прискорення резорбції кісткової тканини, пов'язаного з активацією остеокластів. Застосування стронцію ранелату сприяє ремінералізації кісткової тканини та уповільнює процеси її резорбції як за рахунок пригнічення функції остеокластів, так і завдяки активації остеобластів, що сукупно стимулює остеогенез. Отримані результати дозволили провести клінічну апробацію стронцію ранелату для лікування генералізованого пародонтиту в хворих із цукровим діабетом 2 типу.

У клінічне дослідження було включено 60 хворих на генералізований пародонтит I-II ступеня тяжкості, хронічного перебігу, віком 35-45 років з діагнозом цукровий діабет 2 типу компенсована форма, з яких було сформовано дві групи: група зіставлення, в якій застосовувалася традиційна схема лікування, та основна

група, де пацієнтам додатково призначали стронцію ранелат. Ефективність лікування оцінювали за динамікою клінічних спостережень, даних ортопантомографії та комп'ютерної томографії, результатів біохімічних досліджень. Як маркери резорбції кісткової тканини визначали активність тартратрезистентної кислої фосфатази в сироватці крові та вміст фрагментів  $\beta$ -CrossLaps у сечі. В якості показників остеогенезу визначали концентрацію С-кінцевого пропептиду І типу проколагену в плазмі крові, кісткової лужної фосфатази та остеокальцину в сироватці крові. Як показники мінерального обміну досліджували концентрацію паратгормону сироватки крові, загальні кальцій та неорганічний фосфор у крові.

У найближчий термін спостереження проведене комплексне лікування генералізованого пародонтиту призвело до клінічної стабілізації запально-деструктивного процесу в тканинах пародонта в обох дослідних групах ( $p > 0,05$ ). Проте через рік після лікування стан тканин пародонта в пацієнтів основної та групи зіставлення не відрізнявся. У 16,7 % пацієнтів групи зіставлення діагностовано рецидив запально-деструктивного процесу в тканинах пародонта, тоді як в основній групі випадків загострення патологічного процесу не виявлено. Достовірну різницю для груп спостереження встановлено між значеннями комплексних пародонтальних індексів (Рамфйорда, PI та CPITN) ( $p < 0,05$ ). Клініко-рентгенологічна стабілізація спостерігалась у 83,3 % пацієнтів групи зіставлення та у 100 % пацієнтів основної групи. Відповідно, за результатами комп'ютерної томографії альвеолярної кістки встановлено підвищення мінеральної щільності кісткової тканини у хворих обох груп, але лише в основній різниця між показниками до і після лікування була достовірною ( $p < 0,05$ ).

В той же час, у пацієнтів основної групи спостерігалось більш виражене зниження активності тартратрезистентної кислої фосфатази в сироватці крові та концентрації  $\beta$ -CrossLaps у сечі, що свідчило про пригнічення резорбції кісткової тканини, а також збільшення рівня маркерів формування кісткової тканини – концентрації С-кінцевого пропептиду в плазмі крові, кісткової лужної фосфатази в сироватці крові, остеокальцину ( $p < 0,05$ ). Показники мінерального обміну в

кістковій тканині під час лікування та між дослідними групами майже не різнилися ( $p > 0,05$ ).

Таким чином, застосування стронцію ранелату в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту в хворих на цукровий діабет 2 типу забезпечує більш тривалу та стійку клініко-рентгенологічну стабілізацію патологічного процесу в тканинах пародонта, насамперед, за рахунок пригнічення резорбції кісткової тканини та посилення остеогенезу. Отримані результати клінічної апробації дозволяють рекомендувати препарат, що вивчався, для широкого використання в стоматологічній практиці.

*Ключові слова:* генералізований пародонтит, експеримент, щури, комп'ютерна томографія, атомно-емісійна спектрометрія, гістологічне дослідження, імуногістохімічне дослідження, остеотропна терапія, стронцію ранелат.

## SUMMARY

*Matvieienko L. M. Clinical and experimental substantiation of osteotropic therapy of generalized periodontitis in patients with compensated form of type 2 diabetes mellitus.*

– Qualifying scientific work on the manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy in the field 22 – Medical Care, in specialty 221 – Stomatology. – Dnipro State Medical University, Dnipro, 2022.

Changes in periodontal bone tissue are the most severe and difficult to treat symptoms of generalized periodontitis associated with diabetes mellitus. From here, there is a need for specific osteotropic therapy that can normalize metabolic processes in the alveolar bone. In turn, currently, strontium drugs are the most promising in terms of improving osteogenic activity. Strontium ranelate is used to treat osteoporosis due to its antiresorptive and osteoanabolic action. However, its effectiveness in alveolar bone has not been sufficiently studied.

Thus, the aim of the present research is increasing the effectiveness of complex treatment of generalized periodontitis in patients with a compensated form of type 2 diabetes by the way of the clinical and experimental substantiation of osteotropic therapy of the disease.

To achieve this aim, the work was carried out in two stages. At the first (experimental) stage, to substantiate the feasibility of supplementing osteotropic therapy with strontium ranelate, its effect on periodontal tissues was studied in a model of periodontitis on the background of diabetes mellitus, reproduced on rats, using the methods of computer tomography, atomic emission spectrometry and histological, particularly immunohistochemical methods. At the second stage of the dissertation research, they carried out the clinical trial of the complex treatment scheme for generalized periodontitis using osteotropic therapy supplemented with strontium ranelate, developed on the basis of the experimental research results.

To conduct the experiment, the original method of simulating periodontitis with damage of the periodontal connective tissue in rats was developed. It was used nicotinamide intraperitoneally once in the form of an aqueous solution at the rate of 230

mg per kg of the rat's weight and streptozotocin at a dose of 65 mg/kg in the form of 5% solution in a citrate buffer (pH 4.5) in 15 minutes. Then, in 6 days, the xenobiotic penicillamine was administered with drinking water.

First of all, it was investigated the effects of strontium ranelate on alveolar bone loss in rats with experimental diabetes. Examination of bone tissue was carried out for 24 white male Wistar rats weighing 230-250 g, divided into three identical groups of 8 animals (the first group included animals with experimental type 2 diabetes mellitus, based on the use of streptozotocin; in the second group, it was additionally reproduced periodontitis by the introduction of penicillamine; and in the third group, in addition to other drugs, it was used strontium ranelate intragastrically at a dose of 250 mg/kg once a day during the last 28 days of the experiment) and for 6 intact rats.

It was conducted the comparative study of the mineral density and chemical composition of the mandibular bone tissue in rats in the modelling of generalized periodontitis, which develops against the background of metabolic disorders in type 2 diabetes mellitus, and after additional use of strontium ranelate.

So, according data of computer tomography, it was found that in the control group the average values of the mineral density are  $1450.0 \pm 125.0$  HU, in the first group –  $1320.0 \pm 120.0$  HU ( $p > 0.05$ ), in the second group –  $1100.0 \pm 110.0$  HU ( $p < 0.05$ ), in the third group –  $1400.0 \pm 137.0$  HU ( $p > 0.05$ ). Thus, the most pronounced decrease in mineral density was observed with the combined use of nicotinamide, streptozotocin and penicillamine, while strontium ranelate helped to normalize this indicator.

In turn, according to atomic emission spectrometry, the mineralization index (calcium / phosphorus ratio) was 1.14 in the control group, it was 1.05 in the first group, it was 1.0 in the second group and it was 1.26 in the third group. The strontium content in the samples of the third group exceeded the control values by almost in two times ( $p < 0.001$ ) in comparison with its significant decrease in the samples of the first and second groups ( $p < 0.05$ ). An increase in the strontium content led to a decrease in the content of other elements, which was explained by the competitive substitution in apatite crystals. So, strontium ranelate could activate remineralization of the periodontal bone component.

According the results of hystomorphometric study, in the mandible samples of the rats of the second group, osteoporosis phenomena were most significant, while in the third group the average specific area of the inter-root trabecular bone differed a little from the control. In the control group, the number of osteoclasts was  $2.24 \pm 1.41$  cells per  $\text{mm}^2$ , it was  $4.34 \pm 1.37$  cells per  $\text{mm}^2$  in the first group, it was  $2.96 \pm 1.26$  cells per  $\text{mm}^2$  in the second group and it was  $2.24 \pm 1.41$  cells per  $\text{mm}^2$  in the third group ( $p > 0.05$ ). According the results of the immunohistochemical study, the samples of the third group had the most expressive manifestations of osteogenesis and the most intense expression of osteopontin, both in trabecular and compact bone tissue. As a conclusion, the use of strontium ranelate reliably slowed down the processes of bone resorption by the way of inhibiting osteoclasts and activating osteoblasts.

As results of the conducted experiment, the type 2 diabetes model mellitus based on the use of streptozotocin shows a slight resorption of alveolar bone, which can be enhanced by pro-inflammatory stimuli, in particular, the use of penicillamine. This leads to a significant decrease in mineral density and acceleration of bone resorption associated with the activation of osteoclasts. The use of strontium ranelate promotes the remineralisation of bone tissue and slows down the processes of its resorption both by inhibiting the function of osteoclasts and by activating osteoblasts, which stimulates osteogenesis.

In summary, the obtained results made it possible to conduct a clinical trial of strontium ranelate in patients with generalized periodontitis against the background of type 2 diabetes mellitus.

The clinical trial included 60 patients with generalized periodontitis of I-II degree of severity, chronic course, aged 35-45 years, who were diagnosed with compensated form of type 2 diabetes mellitus, from whom two groups were formed. They were group of comparison, in which the traditional treatment regimen was used, and main group, where patients were prescribed strontium ranelate additionally. The treatment effectiveness was evaluated according to the dynamics of clinical observations, orthopantomography and computed tomography data, the results of biochemical studies. As markers of bone resorption, tartrate-resistant acid phosphatase activity in blood serum and the content of  $\beta$ -

CrossLaps fragments in urine were determined. As markers of osteogenesis, the concentration of C-terminal propeptide type I procollagen in blood plasma, bone alkaline phosphatase and osteocalcin in blood serum were determined. Serum parathyroid hormone concentrations, total calcium and total inorganic phosphorus in the blood were studied as indicators of mineral metabolism.

In the near future observation, the conducted complex treatment of generalized periodontitis led to clinical stabilization of the inflammatory-destructive process in the periodontal tissues without a significant difference between the research groups ( $p > 0.05$ ). However, in a year after the treatment, the condition of periodontal tissues in patients of the experimental groups differed. In 16.7% of patients from the comparison group, recurrence of the inflammatory-destructive process in periodontal tissues was diagnosed, while the cases of the deterioration of the pathological process were not detected in the main group. A significant difference was found for complex periodontal indices (Ramfjord, PI and CPITN) ( $p < 0.05$ ). Clinical and radiological stabilization was observed in 83.3% of patients of the comparison group and in 100% in the main group. According to the results of computed tomography of the alveolar bone, an increase in bone mineral density was established in both groups, but only in the main group the difference between indices before and after treatment was significant ( $p < 0.05$ ).

In turn, in patients of the main group there was a more pronounced decrease in the activity of tartrate-resistant acid phosphatase in the serum and the concentration of  $\beta$ -CrossLaps in the urine, indicating inhibition of bone resorption, as well as increase in the markers of bone formation – the concentration of C-terminal propeptide in blood plasma, bone alkaline phosphatase in serum, osteocalcin ( $p < 0.05$ ). Indicators of mineral metabolism in bone tissue, both during treatment and for research groups, almost did not differ ( $p > 0.05$ ).

Thus, the use of strontium ranelate in the complex treatment of generalized periodontitis in patients with type 2 diabetes mellitus provides a longer and more stable clinical and radiological stabilization of the pathological process in periodontal tissues, primarily by inhibiting bone resorption and enhancing osteogenesis. The obtained results allow us to recommend the wide use of strontium ranelate in stomatological practice.

*Key words:* generalized periodontitis, experiment, rats, computered tomography, atomic emission spectrometry, histological study, immunohistochemical study, osteotropic therapy, strontium ranelate.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

*Список наукових праць, в яких опубліковані основні  
наукові результати дисертації:*

1. Matvieienko LM, Matvieienko RY, Fastovets OO. Effects of strontium ranelate on alveolar bone in rats with experimental diabetes mellitus. Wiadomosci Lekarskie. 2022; 75 (1 p.2): 151-155. doi: 10.36740/WLek202201201. *(Здобувачкою відтворено експериментальну модель, проведено набір та аналіз даних гістологічного, морфоморфометричного та імуногістохімічного досліджень, зроблено висновки та підготовлено статтю до друку.)*
2. Матвєєнко ЛМ. Мінеральні щільність та хімічний склад нижньощелепних кісток щурів в експериментальних моделях генералізованого пародонтиту. Медичні перспективи. 2022; 27 (2): 16-22. doi: 10.26641/2307-0404.2022.2.260058.
3. Самойленко АВ, Матвєєнко ЛМ. Результати клінічної апробації комплексного лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням препаратів стронцію у хворих на цукровий діабет 2 типу. Український стоматологічний альманах. 2021; 3: 37-43. *(Здобувачка особисто брала участь у проведенні клінічних досліджень, узагальненні та статистичній обробці отриманих результатів, формуванні висновків та підготовці статті до друку).*

*Список наукових праць, які додатково відображають  
наукові результати дисертації:*

4. Патент України на корисну модель № 138066 G 09 B 23/28, A 61 P 31/00, A 61 K 6/06. Спосіб моделювання пародонтиту з ураженням сполучної тканини пародонта / Матвєєнко ЛМ, Самойленко АВ, Жилюк ВІ, Матвєєнко РЮ, Харченко ЮВ. № 2019 01329; заявл. 11.02.2019; опубл. 25.11.2019, Бюл. № 22. *(Здобувачці належить патентно-інформаційний пошук, добір експериментального матеріалу, аналіз і статистичне опрацювання отриманих результатів, оформлення патенту).*

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

5. Матвєєнко ЛМ. Щодо проблеми створення експериментальної моделі пародонтиту. Зб. наук. праць V міжнародн. наук.-практ. конф. «Стоматологія Придніпров'я». Україна, Дніпропетровськ-Запоріжжя. 2019. С.121-123.
6. Matvieienko L. Effect of strontium ranelate on alveolar bone in rats with experimental general periodontitis. Collection of scientific works "Modern scientific challenges and trends". Poland, Warshava. 2020. P. 46-48.
7. Matvieienko LM. The comparative study of two experimental models of generalized periodontitis in rats. International Scientific and Practical Conference "Medcine and Health Care: topical issues and current aspects". Respublic of Poland, Lublin. 2021. P. 105-108.doi: 10.30525/978-9934-26-038-4-28.
8. Матвєєнко ЛМ. Результати вивчення мінерального складу нижньощелепних кісток щурів при експериментальному пародонтиті. Мат. XXI наук. конф. студентів та молодих вчених «Новини і перспективи медичної науки». Україна, Дніпро. 2021. С. 87.
9. Матвєєнко ЛМ, Матвєєнко РЮ. Експериментальне обґрунтування застосування препаратів стронцію при лікуванні генералізованого пародонтиту на тлі цукрового діабету другого типу. Мат. наук.-практ.конф. з міжнародн. участю «Інноваційні технології в сучасній стоматології». Україна, Івано-Франківськ. 2021. С.102-104.

## ЗМІСТ

|                                                                                                                                                                                      |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Перелік умовних скорочень .....</b>                                                                                                                                               | <b>16</b> |
| <b>Вступ .....</b>                                                                                                                                                                   | <b>18</b> |
| <b>Розділ 1. Особливості ураження кісткової тканини при генералізованому пародонтиті в хворих із цукровим діабетом 2 типу та пошук методів їх лікування (огляд літератури) .....</b> | <b>24</b> |
| 1.1. Розповсюдженість та особливості перебігу генералізованого пародонтиту в хворих із цукровим діабетом 2 типу.....                                                                 | 24        |
| 1.2. Етіопатогенетичні механізми впливу цукрового діабету 2 типу на стан альвеолярної кістки при генералізованому пародонтиті.....                                                   | 29        |
| 1.3. Сучасний досвід створення та вивчення ефективності лікування генералізованого пародонтиту в експериментальних моделях цукрового діабету.....                                    | 35        |
| 1.4. Сучасні підходи до лікування генералізованого пародонтиту в хворих із цукровим діабетом 2 типу .....                                                                            | 41        |
| <b>Розділ 2. Матеріали, об'єкти і методи досліджень .....</b>                                                                                                                        | <b>46</b> |
| 2.1. Матеріали і методи експериментального дослідження.....                                                                                                                          | 46        |
| 2.1.1. Обґрунтування методики відтворення експериментальної моделі генералізованого пародонтиту на тлі цукрового діабету 2 типу на щурах.....                                        | 46        |
| 2.1.2. Застосовані в дослідженні експериментальні моделі на щурах.....                                                                                                               | 50        |
| 2.1.3. Вивчення мінеральної щільності нижніх щелеп щурів за допомогою методу комп'ютерної томографії.....                                                                            | 53        |
| 2.1.4. Дослідження хімічного складу зразків нижніх щелеп експериментальних щурів.....                                                                                                | 55        |
| 2.1.5. Морфологічні методи дослідження .....                                                                                                                                         | 56        |
| 2.2. Об'єкти та методи клініко-рентгенологічного та біохімічного обстеження.....                                                                                                     | 59        |
| 2.3. Статистичні методи дослідження .....                                                                                                                                            | 64        |

|                                                                                                                                                                                                                                       |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Розділ 3. Біохімічні маркери кісткового метаболізму, мінеральна щільність та хімічний склад нижньощелепних кісток щурів в експериментальних моделях генералізованого пародонтиту та після застосування стронцію ранелату .....</b> | <b>66</b>  |
| <b>Розділ 4. Гістологічні зміни тканин пародонта в умовах експериментального пародонтиту на тлі цукрового діабету та після застосування стронцію ранелату.....</b>                                                                    | <b>78</b>  |
| 4.1. Результати гістологічного дослідження структури кісткової тканини нижньої щелепи щурів різних дослідних груп.....                                                                                                                | 79         |
| 4.2. Результати вивчення питомої щільності кісткової тканини та активності остеокластів і остеобластів.....                                                                                                                           | 82         |
| 4.3. Імуногістохімічне дослідження експресії остеопонтину та остеокальцину .....                                                                                                                                                      | 89         |
| <b>Розділ 5. Результати клінічної апробації комплексного лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням препаратів стронцію в хворих на цукровий діабет 2 типу.....</b>                                                      | <b>99</b>  |
| <b>Розділ 6. Аналіз і узагальнення результатів дослідження .....</b>                                                                                                                                                                  | <b>114</b> |
| <b>Висновки .....</b>                                                                                                                                                                                                                 | <b>123</b> |
| <b>Практичні рекомендації .....</b>                                                                                                                                                                                                   | <b>125</b> |
| <b>Список використаних джерел .....</b>                                                                                                                                                                                               | <b>126</b> |
| <b>Додатки .....</b>                                                                                                                                                                                                                  | <b>165</b> |

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

|         |                                                                                                                          |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| АТФ –   | аденозинтрифосфорна кислота;                                                                                             |
| ВООЗ –  | Всесвітня організація охорони здоров'я;                                                                                  |
| ДНК –   | дезоксирібонуклеїнова кислота;                                                                                           |
| ММП –   | матриксна металопротеїназа;                                                                                              |
| НАДФ –  | нікотинамідаденіндинуклеотиду фосфат;                                                                                    |
| ПК –    | площа кісткової тканини;                                                                                                 |
| ПТ –    | площа всіх тканин;                                                                                                       |
| ПК/ПТ – | показник відношення площі кісткової тканини до загальної площі всіх тканин у місці розташування першого нижнього моляра; |
| ЦД 2 –  | цукровий діабет 2 типу;                                                                                                  |
| ц ГМФ – | циклічний гуанозінмонофосфат;                                                                                            |
| AGE –   | Advanced Glycation End Products – кінцеві продукти глікування;                                                           |
| ВАР –   | Bone-specific Alkaline Phosphatase – кісткова лужна фосфатаза;                                                           |
| BMD –   | Bone Mineral Density – показник мінеральної щільності кісткової тканини;                                                 |
| BMP –   | Bone Morphogenetic Protein – кістковий морфогенетичний білок;                                                            |
| CPITN – | Community Periodontal Index of Treatment Needs – комплексний пародонтальний індекс потреби в лікуванні;                  |
| ELISA – | Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – метод імуноферментного аналізу;                                                      |
| HbA1c – | глікований гемоглобін;                                                                                                   |
| HU –    | Hounsfield units – одиниці Хаунсфільда;                                                                                  |
| IL –    | interleukins – інтерлейкіни;                                                                                             |

|                 |                                                                                                                    |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NF- $\kappa$ B  | Nuclear Factor- $\kappa$ B – ядерний фактор $\kappa$ B;                                                            |
| O –             | Osteocalcin – остеокальцин;                                                                                        |
| OHI-S –         | Oral Hygiene Index-Simplified – спрощений індекс гігієни порожнини рота;                                           |
| OPG –           | Osteoprotegerin – остеопротегерин;                                                                                 |
| PMA –           | Papillary Marginal Alveolar Index – папілярно-маргінально-альвеолярний індекс;                                     |
| RANKL –         | Receptor Activator of Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand – активатор рецептора ліганду ядерного фактору $\kappa$ B; |
| TNF- $\alpha$ – | Tissue Necrosis Factor- $\alpha$ – фактор некрозу пухлини- $\alpha$ ;                                              |
| TRAP –          | Tartar Resistant Acid Phosphatase – тартратрезистентна кисла фосфатаза.                                            |

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми** пов'язана зі значною поширеністю захворювань пародонта, показник якої серед населення України віком старше 40 років складає 92-98% [28]. За даними ВООЗ генералізований пародонтит займає шосте місце серед всіх захворювань людини та вражає понад 60% дорослого населення. При цьому у 10% хворих захворювання перебігає агресивно, що призводить до швидкого руйнування навколозубних тканин та передчасної втрати зубів [291].

Натепер доведено, що головним етіологічним чинником у виникненні генералізованого пародонтиту є якісні та кількісні зміни мікрофлори зубоясенного з'єднання, зокрема активація специфічних пародонтопатогенних мікроорганізмів [8, 18]. Разом з тим, відомо, що витривалість тканин пародонта до мікробної інвазії визначається системними факторами. Так, у пацієнтів з тяжкими супутніми захворюваннями ризик виникнення пародонтиту, також як і вірогідність його агресивного перебігу, значно більший [35], це, насамперед, стосується цукрового діабету, який збільшує ризик прогресування генералізованого пародонтиту на 86,0% [245].

Зазначається, що цукровий діабет 2 типу (ЦД 2) впливає на стан тканин пародонта через розлади метаболічного та імунного статусу, що призводять до зниження загальної резистентності організму [16, 51, 261]. При цьому найважливішими віддаленими ускладненнями пародонтиту, що розвиваються на тлі ЦД 2, є зміни кісткового метаболізму [319], які описуються порушенням кісткового ремоделювання внаслідок підвищення рівня кісткової резорбції та зниження формування кісткової тканини [15]. Одночасно в експериментах на щурах доведено, що зазначені структурно-функціональні зміни в кістковій тканині супроводжуються дисбалансом макро- та мікроелементів [24].

Враховуючи особливості перебігу генералізованого пародонтиту на тлі ЦД 2, лікування захворювання повинно бути комплексним із застосуванням методів, спрямованих на різні ланки етіопатогенезу [10]. Виходячи з того, що антимікробна та протизапальна терапія пародонтиту не спроможні нормалізувати рівновагу

«кісткова резорбція – кісткове формування», виникає потреба застосування специфічної остеотропної терапії, здатної прискорити процеси регенерації в альвеолярній кістці. В свою чергу, найбільш перспективними на тепер щодо покращення остеогенної активності є препарати стронцію [277].

У свою чергу, обрати вірну тактику лікування дозволяє оцінка резорбтивного потенціалу кісткової тканини у пацієнтів із генералізованим пародонтитом [138]. В той же час найбільш показовим для первинного обґрунтування методів лікування захворювання, зокрема на тлі метаболічних розладів, є створення експериментальної моделі на тваринах [38].

На наш погляд, проведення експериментального дослідження на експериментальній моделі пародонтиту на тлі ЦД 2 у щурів дозволить довести доцільність використання стронцію ранелату щодо нормалізації процесів кісткового метаболізму, а також пригнічення резорбції та стимуляції остеогенезу. Отримані результати дозволять проведення клінічної апробації комплексного лікування генералізованого пародонтиту, доповненого препаратами стронцію, в хворих на ЦД 2.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дисертаційне дослідження проведене в рамках науково-дослідної роботи кафедри терапевтичної стоматології Державного закладу «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України» (з 2021 р. – Дніпровського державного медичного університету) «Удосконалення нових методів діагностики, лікування та профілактики основних стоматологічних захворювань» (реєстраційний номер 0117 У 004731). За цією темою дисертантом виконаний окремий фрагмент.

**Мета роботи** – підвищення ефективності комплексного лікування генералізованого пародонтиту в хворих із компенсованою формою цукрового діабету 2 типу шляхом клініко-експериментального обґрунтування остеотропної терапії захворювання.

### **Завдання роботи:**

1. Розробити та відтворити експериментальну модель генералізованого пародонтиту, який розвивається на тлі метаболічних порушень при ЦД 2, у щурів.

2. Провести порівняльне дослідження мінеральної щільності кісткової тканини нижніх щелеп щурів при моделюванні генералізованого пародонтиту на тлі ЦД 2, а також при додатковому застосуванні стронцію ранелату.

3. Вивчити вміст хімічних елементів в кістковій тканині нижніх щелеп щурів при моделюванні генералізованого пародонтиту на тлі ЦД 2, а також при додатковому застосуванні стронцію ранелату.

4. Дослідити вплив стронцію ранелату на втрату альвеолярної кістки у щурів з експериментальним ЦД 2 із застосуванням гістологічних, гістоморфометричних та імуногістохімічних методів дослідження.

5. Провести клінічну апробацію комплексного лікування генералізованого пародонтиту, доповнену препаратами стронцію ранелату, у хворих із ЦД 2.

*Об'єкт дослідження* – порушення структурно-функціонального стану альвеолярної кістки при розвитку генералізованого пародонтиту на тлі ЦД 2.

*Предмет дослідження* – ефективність доповнення остеотропної терапії препаратами стронцію при комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту в хворих із компенсованою формою ЦД 2.

**Методи дослідження:** загальноприйняте стоматологічне клінічне обстеження хворих на генералізований пародонтит та ЦД 2, рентгенологічні (ортопантомографія, комп'ютерна томографія), біохімічні дослідження для вивчення вмісту маркерів кісткового метаболізму в крові та сечі, оцінки стану кісткової тканини пародонта хворих на генералізований пародонтит та ЦД 2, визначення ефективності запропонованого лікування; на відтвореній експериментальній моделі генералізованого пародонтиту на тлі метаболічних порушень при ЦД 2 у щурів - морфологічні (гістологічні, гістоморфометричні, імуногістохімічні) – для вивчення структури кісткової тканини нижніх щелеп експериментальних тварин; атомно-емісійна спектрометрія – для визначення вмісту хімічних елементів у кістковій тканині нижніх щелеп щурів; комп'ютерна

томографія – для вивчення структури кісткової тканини нижніх щелеп експериментальних тварин; статистичні – для аналізу результатів дослідження, оцінки їх достовірності, визначення ефективності запропонованого лікування.

### **Наукова новизна одержаних результатів**

Вперше доведено, що застосування ксенобіотику пеніциламіну в експериментальній моделі ЦД 2 на щурах, створеній шляхом введення нікотинамід у та стрептозотоцину, призводить до зниження мінеральної щільності та посилення резорбції кісткової тканини нижніх щелеп, що підтверджено даними комп'ютерної томографії, атомно-емісійної спектроскопії та морфологічного дослідження.

Вперше показано, що використання стронцію ранелату в експериментальній моделі пародонтиту в діабетичних щурів сприяє нормалізації показника мінеральної щільності нижніх щелеп за даними комп'ютерної томографії.

Вперше встановлено, що позитивний ефект застосування стронцію ранелату в експериментальній моделі пародонтиту в діабетичних щурів полягає в зростанні співвідношення кальцій/фосфор та збільшенні вмісту стронцію на тлі зменшення масової частки інших мікроелементів, що свідчить про активацію ремінералізації кісткової складової пародонта.

Вперше за даними морфологічного дослідження показано, що в експериментальній моделі пародонтиту на тлі ЦД 2, відтвореної у щурів, застосування стронцію ранелату достовірно уповільнює процеси резорбції кісткової тканини як за рахунок пригнічення функції остеокластів, так і за рахунок активації остеобластів, що в сукупності прискорює остеогенез.

Вперше показано, що доповнення остеотропної терапії препаратами стронцію комплексного лікування генералізованого пародонтиту у хворих на компенсований ЦД 2 призводить до більш тривалої та стійкої клініко-рентгенологічної стабілізації запально-деструктивного процесу в тканинах пародонта за показниками структурно-функціонального стану альвеолярної кістки та маркерами кісткового метаболізму.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Запропонована схема комплексного лікування генералізованого пародонтиту в хворих із компенсованою формою ЦД 2, що передбачає застосування остеотропної терапії, доповненої препаратами стронцію.

Результати роботи впроваджені в стоматологічних установах м. Дніпра, а матеріали дисертації використовуються в навчально-педагогічному процесі Дніпровського державного медичного університету.

### **Особистий внесок здобувачки**

Здобувачка особисто обрала напрямок дисертаційного дослідження та здійснила аналіз сучасних літературних джерел із проблеми, що вивчається. Вона самостійно сформулювала мету та завдання роботи, розрахувала репрезентативний обсяг спостережень, а також визначилася та оволоділа необхідними методами дослідження. Дисертантка організувала та провела клініко-лабораторні дослідження, узагальнила та статистично опрацювала одержані результати. Вона самостійно сформулювала висновки та практичні рекомендації.

### **Апробація результатів дисертації**

Результати дисертаційного дослідження доповідалися та обговорювалися на V міжнародній науково-практичній конференції «Стоматологія Придніпров'я» (Дніпропетровськ-Запоріжжя, 19 квітня 2019 р.), на VI міжнародній науково-практичній конференції «Стоматологія Придніпров'я 2020» (22 жовтня 2020 р.), на міжнародній науковій конференції «Modern scientific challenges and trends» (Варшава, 30 грудня 2020 р.), на міжнародній науково-практичній конференції «Medicine and Health Care: topical issues and current aspects» (Люблін, 26-27 лютого 2021 р.), на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Інноваційні технології в сучасній стоматології» (Івано-Франківськ, 24-26 березня 2021 р.), на Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання реабілітації стоматологічних пацієнтів» (Запоріжжя, 27-28 травня 2021 р.), на XXI науковій конференції студентів та молодих вчених «Новини і перспективи медичної науки» (Дніпро, 18 травня 2021 р.).

### **Публікації**

За темою дисертації опубліковано 9 наукових робіт, серед яких 3 статті – 2 у фахових виданнях, рекомендованих ДАК України, 2 – у виданнях, що індексуються наукометричною базою Scopus, 5 тез у збірниках конференцій, зокрема 2 – закордонних, 1 патент України на корисну модель.

### **Структура та обсяг дисертації**

Дисертаційна робота викладена на 170 сторінках комп'ютерного тексту і складається зі вступу, огляду літератури, характеристики об'єктів і методів досліджень, трьох розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних літературних джерел, що містить 336 бібліографічних джерел, з них 59 – кирилицею та 277 – латиницею, 2 додатків. Роботу ілюстровано 9 таблицями та 36 рисунками.

## РОЗДІЛ 1

# ОСОБЛИВОСТІ УРАЖЕННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ПРИ ГЕНЕРАЛІЗОВАНОМУ ПАРОДОНТИТІ В ХВОРИХ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ ТА ПОШУК МЕТОДІВ ЇХ ЛІКУВАННЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

### 1.1. Розповсюдженість та особливості перебігу генералізованого пародонтиту у хворих із цукровим діабетом 2 типу

Цукровий діабет – це метаболічний розлад, який характеризується хронічною гіперглікемією через недостатню секрецію інсуліну та/або резистентність до інсуліну в тканинах-мішенях [309].

За даними ВООЗ на сьогодні у світі налічується 160 мільйонів хворих на цукровий діабет, що складає 2-3 % населення планети, при цьому до 2025 р. передбачається зростання їх кількості до 330 мільйонів. У 2017 році 451 мільйонів людей у віці 18–99 років хворіли на діабет у всьому світі [118], і очікується, що до 2035 року поширеність захворювання перевищить 592 мільйони [159].

В Україні теж спостерігається значне зростання захворюваності на цукровий діабет, при цьому 70% хворих знаходяться у стані хронічної декомпенсації, а близько 90 % всіх клінічних випадків становить цукровий діабет 2 типу (ЦД 2) [10].

Цукровий діабет характеризується значною кількістю коморбідних захворювань, тобто тих, з якими його поєднують причинно-наслідкові зв'язки та механізми розвитку, а також взаємозалежність перебігу і виникнення різного роду ускладнень [53, 54].

Між ЦД 2 та генералізованим пародонтитом існує очевидний двоспрямований зв'язок [67, 73, 96, 113, 278, 290, 318]. Добре розуміння цього зв'язку є важливим для успішного лікування обох захворювань [40, 164, 172].

На думку [147, 304] ЦД 2 є первинним по відношенню до пародонтиту. Зазначається, що розвиток агресивної форми захворювання може бути ранньою ознакою цукрового діабету. Навпаки, в роботі [178] на підставі трирічного клінічного спостереження заперечується зв'язок між пародонтитом і ризиком переддіабету/діабету. У будь-якому випадку генералізований пародонтит є потенційним фактором ризику ЦД 2, оскільки він здатний порушувати гомеостаз глюкози, викликаючи переддіабетичний стан [305].

Коморбідність ЦД 2 та пародонтиту пов'язана з поліморфізмом генів ліпідного обміну. Так, APOB-rs1042031 вважається тим генним маркером, що поєднує профілі метаболізму глюкози та ліпідів, а також ожиріння та пародонтиту [247]. Деякі однонуклеотидні поліморфізми (SNP) у генах IL10, IL1A, IL1B, IL4, TNFA, IL6, OPG, RANK і RANKL, «класично» пов'язані з пародонтитом, характеризуються схильністю до ЦД 2 [124]. Поліморфізм гену TNF- $\alpha$  rs1800629 може впливати на ризик виникнення як генералізованого пародонтиту, так і ЦД 2 [288]. За допомогою лужного одноклітинного гелю (комети) у хворих на пародонтит на тлі ЦД 2 встановлені найбільші пошкодження ДНК у сироватці крові [271]. Проте дослідження генетичної схильності до пародонтиту окремо або у сукупності з ЦД 2 із використанням аналізу однонуклеотидних поліморфізмів у гені інтерлейкіну 17  $\alpha$  (IL-17  $\alpha$ ), із врахуванням біохімічного профілю, не мали достовірних результатів [275].

Згідно [178] генералізований пародонтит є шостим за частотою ускладненням цукрового діабету. За даними [224], оскільки пародонтит має схожу патофізіологію з іншими мікросудинними діабетичними ускладненнями, захворювання можна вважати четвертим за частотою хронічним мікросудинним ускладненням ЦД 2.

За даними [336] поширеність діабету становить 13,1% серед хворих на пародонтит та 9,6% – серед осіб без пародонтиту. При цьому найвищі показники коморбідності спостерігаються в дослідженнях, проведених в азіатських країнах (17,2 %), а найнижчі – серед населення Європи (4,3%). У США ЦД 2 вражає кожного десятого дорослого, а пародонтит – чотирьох із десяти [147]. В Індонезії

більшість пацієнтів із ЦД 2 мають пародонтит, а 75,3% з них – тяжкий перебіг захворювання [187].

За даними [10] практично в 100% хворих на ЦД 2 діагностується генералізований пародонтит, що описується більш тяжким та швидким перебігом [70, 156]. В цілому ж одні автори вказують на те, що ризик розвитку ЦД 2 в хворих на пародонтит середнього та тяжкого ступеня в 3,2 разів вищий, ніж у пацієнтів із легким або помірним ступенем тяжкості захворювання [209, 315], тоді як інші дослідники зв'язок між діабетом та тяжкістю запально-деструктивного процесу в пародонті заперечують [335].

Згідно аналізу 27 робіт, в яких обстежено 3 092 пацієнтів із ЦД 2 і 23 494 здорових осіб в якості контролю, загальна поширеність пародонтиту становить 67,8% у хворих на ЦД 2 і 35,5% – в контрольній групі [332].

За результатами 53 спостережень поширеність ЦД 2 значно вища при пародонтиті. Такі пацієнти мають значно гірший пародонтальний статус за показниками глибини пародонтальних кишень, втрати прикріплення, кількості видалених зубів). ЦД 2 підвищує ризик пародонтиту на 34 %, тоді як тяжкий ступінь захворювання збільшує частоту ЦД 2 на 53 % [318].

Результати обстеження 4477 осіб віком старше 30 років показали, що в 43,7 % хворих на ЦД 2 діагностований пародонтит, тоді як лише 25,0 % осіб, які не мають діабет, страждають на пародонтит [166].

Ризик пародонтиту підвищується в 2-3 рази при ЦД 2, при цьому рівень глікемічного контролю та ступінь тяжкості гіперглікемії є визначальними ризиками розвитку запально-деструктивного процесу в навколзубних тканинах [96, 146, 193, 266, 268]. Пацієнти з ЦД 2 та тяжким перебігом пародонтиту мають у 6 разів гірший глікемічний контроль, ніж особи зі здоровим пародонтом [87]. Мета-аналіз 13 досліджень, що охоплювали 49 262 осіб, зокрема 3 197 із ЦД 2, показав, що діабет підвищує ризик виникнення або прогресування пародонтиту на 86,0% [245].

Чоловіча стать, вік, куріння, гігієнічний стан ротової порожнини, стоматологічний контроль і якість життя сприяють виникненню пародонтиту при ЦД 2 [166, 179]. Навпаки, в роботі [42] вплив гендерного фактору заперечується,

проте наголошується значущість фактору тривалості захворювання. У свою чергу, за даними [212] на ймовірність розвитку середньо-тяжкої форми пародонтиту в хворих на ЦД 2 типу впливає стать, індекс маси тіла, демографічні показники, соціально-економічний статус, поведінка щодо гігієни порожнини рота.

На перебізі пародонтиту на тлі ЦД 2 відіграють такі супутні чинники, як вік, паління, артеріальна гіпертензія, дисліпідемія, ожиріння та ревматоїдний артрит [23, 54, 100, 146, 198, 255].

Одночасно, фізична активність протягом 6 місяців є заходом зміцнення здоров'я для пацієнтів із ЦД 2 та покращує як стан пародонта, так і концентрацію глікованого гемоглобіну (HbA1c) в крові [314].

Переважає більшість досліджень на людях і тваринах вказує на зв'язок між пародонтитом і метаболічним синдромом, діабетом і серцево-судинними захворюваннями. Крім того, є докази того, що метаболічний синдром і діабет можуть змінити мікробіом порожнини рота [13, 38, 259]. Результати дослідження [151] свідчать про те, що чим більша тяжкість пародонтиту, тим більша величина зв'язку з метаболічним синдромом.

Пародонтит при ЦД 2 пов'язаний зі збільшенням частоти інфарктів міокарда, інсультів та ускладнень з боку нирок; його наявність підвищує ризик смертності на 1 % [73, 132, 155, 183, 224]. Доведено, що діагностований пародонтит пов'язаний з підвищеними ризиками у хворих на ЦД 2 діабетичної мікроангіопатії [330] та мікросудинних ускладнень, таких як нефропатія, нейропатія, ретинопатія [253].

В той же час, згідно результатів мета-аналізу літературних джерел, місцеве пародонтальне лікування впливає на метаболічний контроль і зменшення системного запалення у пацієнтів із ЦД 2 [88]. Пародонтит порушує контроль глікемії у пацієнтів із ЦД 2, тоді як його лікування – покращує [99, 135, 139, 155, 224, 240, 267, 272, 290, 303]. Зниження рівня HbA1c в крові є визнаним показником успішного лікування ЦД 2 [115, 129, 228, 269, 286].

Встановлено, що після 1,7 років спостереження тривалий пародонтологічний догляд покращує довгостроковий контроль глікемії в осіб із ЦД 2 [233]. Досліджено, що лікування пародонту у хворих, що не мали ЦД 2, сприяє

підвищенню чутливості до інсуліну та зниженню рівня С-реактивного білка в сироватці крові [243]. Більш того, лікування пародонтиту у хворих на ЦД 2 може бути ефективним щодо зниження серцево-судинних ускладнень [294].

Утім зазначається, що лікування пародонтиту на тлі ЦД 2 призводить до покращення контролю глікемії зі зниженням рівня HbA1c на 3-4 ммоль/моль (0,3-0,4%) лише протягом короткого періоду (3-4 місяці) після лікування [266]. За спостереженнями [246] позитивний ефект від лікування пародонту щодо глікемічного контролю зберігається протягом 3 місяців. Автори вказують, що місцеве лікування генералізованого пародонтиту забезпечує статистично значуще зниження рівня HbA1c через 3 місяці приблизно на 0,4 %, тоді як через 6 місяців цей показник знижується до вихідних значень [214]. Одночасно згідно [167] ЦД 2 ( $\text{HbA1c} \leq 8,5\%$ ) не впливає суттєво на короткострокові клінічні результати лікування пародонтиту.

Кращий ефект щодо діабетичного стану спостерігається при застосуванні сучасних методів терапії тканин пародонта – фотодинамічної терапії та лікування доксицикліном [111, 270], а також системної антибіотекотерапії [224, 249]. Тоді як в роботах [211, 234] доведено, що системні антибіотики під час лікування пародонту не сприяють значному зниженню рівня HbA1c у пацієнтів із ЦД 2.

Отримані результати наукових досліджень сприяли включенню заходів щодо лікування пародонтиту в клінічні рекомендації хворим із ЦД 2 [293]. Наявність зв'язку між захворюваннями є обґрунтуванням проведення скринінгу пацієнтів із пародонтитом щодо ЦД 2 і навпаки [297]. В якості факторів ризику переддіабету/діабету на стоматологічному прийомі рекомендується розглядати агресивний перебіг пародонтиту, віковий фактор, підвищенні значення індексу маси тіла та збільшення активності матриксної металопротеїнази aММП-8 [157].

Натепер створена скринінгова модель, яка допомагає клініцистам у ранньому виявленні діабетичного статусу пацієнтів із пародонтитом [298]. В Україні розроблена «Медико-соціологічна картка» для визначення системних і локальних факторів ризику пародонтиту у пацієнтів із ЦД 2 [100]. Доведено ефективність

виявлення недіагностованого ЦД 2 та переддіабету у пацієнтів з пародонтитом, які відвідують загальну стоматологічну практику [150].

Контроль гіперглікемії в профілактиці пародонтиту та контроль стану тканин пародонта в профілактиці діабету необхідний при плануванні лікування обох захворювань [82, 218, 256, 293]. Європейська федерація пародонтології та Міжнародна діабетична федерація повідомляють про узгоджені рекомендації для лікарів та пацієнтів щодо покращення ранньої діагностики, профілактики та спільного лікування діабету та пародонтиту [283, 289]. Така тактика потребує покращення мультидисциплінарної роботи стоматологів та ендокринологів [39, 101].

Як висновок, коморбідність ЦД 2 та генералізованого пародонтиту очевидна, разом з тим остаточно не з'ясованим залишається порядок реалізації спільних причинно-наслідкові ланок патогенезу захворювань: що є первинним – запально-деструктивний процес в пародонті, який впливає на системний метаболізм, або ЦД 2 призводить до дистрофічного ураження тканин пародонта, зокрема альвеолярної кістки, до якого приєднується запалення, спричинене порушенням мікробіозу.

## **1.2. Етіопатогенетичні механізми впливу цукрового діабету 2 типу на стан альвеолярної кістки при генералізованому пародонтиті**

Найбільш характерною і тяжкою ознакою пародонтиту при ЦД 2 є дистрофія альвеолярного відростка з резорбцією міжзубних перегородок [9, 136, 312, 319].

Відомо, що основні розлади кісткового метаболізму та мінерального обміну внаслідок ЦД 2 полягають у виникненні вторинної остеопенії та остеопорозу. Так, 50% хворих на ЦД 2 мають остеопенічні порушення [120, 284], які потребують специфічних підходів у пародонтологічному лікуванні [59]. Для агресивної форми пародонтиту характерні розлади регенерації кісткової тканини на тлі значного зростання резорбтивних явищ [37].

Саме гіперглікемія пригнічує відновлення альвеолярної кістки та посилює її резорбцію при пародонтиті [12, 126]. При цьому порушення кісткового метаболізму

супроводжуються функціональним дисбалансом між остеобластами та остеокластами [152, 257]. ЦД 2 передбачає вроджені і адаптивні імунні відповіді організму, які посилюють остеокластогенез та активують апоптоз остеобластів [319], до того ж гіперглікемія характеризується прямою токсичною дією на остеобласти, пригнічуючи їх диференціювання та функціонування [133, 168].

Патогенетичний зв'язок між пародонтитом та ЦД 2 реалізується через такі патофізіологічні механізми, як запалення, змінені реакції організму «хазяїна», порушення гомеостазу тканин і резистентність до інсуліну [55, 98, 109, 158]. ЦД 2, пов'язаний з підвищенням концентрації багатьох факторів запалення, таких як інтерлейкіни, циклооксигенази, простагландини та TNF- $\alpha$ , може активізувати диференціацію остеокластів і індукувати кісткову резорбцію [125, 177, 316].

У той час як пародонтит може призвести до десенсибілізації інсулінового рецептора, діабет може збільшити експресію запальних цитокінів, таких як фактор некрозу пухлини- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) та інтерлейкін 6 (IL-6), в ясенній рідині та активувати остеокласти через RANKL (активатор рецепторів ядерного фактору В ліганд), що призводить до резорбції кістки [213]. Рівень глюкози в крові впливає на експресію RANKL і OPG (остеопротегерину), а рівень RANKL і RANKL/OPG у ясенній рідині хворих на діабет значно зростає [72].

Встановлено, що тяжкість пародонтиту корелює з рівнем OPG у сироватці крові [79]. Навпаки, після пародонтологічного лікування в хворих на генералізований пародонтит на тлі ЦД 2 реєструється значне збільшення OPG і зниження RANKL та RANKL/OPG у сироватці крові [324]. Оскільки RANKL/OPG є цитокінами та мають імунну відповідь, низка авторів припускає, що регуляція експресії цих цитокінів допоможе контролювати як ЦД 2, так і пародонтит [84, 87].

Гіперглікемія при ЦД 2 пов'язана зі зниженням експресії BMP (кісткового морфогенетичного білка) [176], який є важливим регулятором остеогенезу через стимулювання мезенхімальних стовбурових клітин до диференціювання в остеобласти [237], а також регуляцію активності остеобластів [181, 331]. Крім того, BMP через трансформуючий фактор росту кіназу 1 та остеопонтин активує остеокальцин, що прискорює формування кісткової тканини [128]. Окрім того,

гіперглікемія сприяє адипогенезу мезенхімальних стовбурових клітин шляхом активації проліфератору пероксидази рецептор гамма (PPAR $\gamma$ ) [143]. Гіперглікемія знижує експресію транскрипційного фактору-2, що утруднює формування кісток [145, 320].

У свою чергу, мікрофлора порожнини рота відіграє важливу роль у розвитку генералізованого пародонтиту на тлі ЦД 2. Доведено, що у пацієнтів із ЦД 2 більш сприятливі умови до змін у підясеневому мікробіомі в бік дисбактеріозу, через порушення метаболічної та імунної регуляції [216, 287]. Встановлено, що ЦД 2 посилює запальну реакцію організму на пародонтопатогенну флору порожнини рота [77, 114]. На тлі зниженої імунної реакції утворення зубного нальоту призводить до диференціації та проліферації великої кількості остеокластів [86, 165, 195].

Визначені таксономічні особливості мікробіому пародонта в хворих на генералізований пародонтит на тлі ЦД 2, які полягають у переважанні в його складі представників родин *Prevotellaceae* та *Spirochaetaceae* [93]. Доведено, що при ЦД 2 в тканинах пародонта підвищуються рівні *Carnocytophaga*, *Porphyromonas* і *Pseudomonas* [153].

Склад мікробіому порожнини рота при ЦД 2 та пародонтиті зміщується в бік дисбактеріозу за рахунок збільшення кількості мікроорганізмів видів *Fusobacteria* та *Porphyromonas*, що провокують прозапальну імунну активність через активацію інтерлейкіну 17 (IL-17), інтерлейкіну 1 (IL-1), TNF- $\alpha$  та ядерного фактору капа бета (NF- $\kappa$ B) [213]. При гіперглікемії експресія прозапальних цитокінів і зміна співвідношення RANKL/OPG сприяють утворенню та активації остеокластів [261].

Результати дослідження мікробних змін кишківника у хворих на пародонтит довели, що при прогресуванні ЦД 2 спостерігається системне запалення та метаболічна дисфункція [203, 210].

Бактеріальна інфекція в діабетичних щурів стимулює пародонтит, який частково реалізується через посилений апоптоз остеобластних клітин шляхом включення каспаза-3-залежного механізму [251].

В експерименті на щурах бактерії переносилися від донорів із діабетом до вільних від мікробів господарів та порівнювалися з результатами передачі від

донорів з нормоглікемічним станом. Було встановлено, що запальна реакція модифікує мікробіоту порожнини рота, щоб зробити її більш патогенною, що проявляється посиленням запалення і втратою кісткової тканини [154].

Проте більшість дослідників дісталися висновку, що суттєвої різниці у складі мікрофлори пародонтальних кишень у хворих на пародонтит у залежності від присутності фонового діабету немає. Діабет не впливає на мікрофлору, але змінює імунну відповідь «хазяїна» [64]. Гіперглікемічне мікрооточення, викликане ЦД 2, посилює запальну реакцію, в якій бере участь шлях передачі сигналу IRE1 $\alpha$  реакції розгорнутого білка (UPR) [204]. Суттєве зростання рівня цитокінів у хворих на пародонтит на тлі ЦД 2 свідчить про посилений запальний стан [61].

Доведено, що ЦД 2 посилює запальний цитокін IL-17, роблячи мікробіом порожнини рота більш патогенним [153, 321]. Крім того, IL-17 може індукувати остеокластогенез шляхом посилення TNF і RANKL та має диференційований вплив на остеобласти [170]. Про роль IL-17 $\alpha$  та IL-18 у запально-деструктивному процесі в пародонті на тлі ЦД 2 свідчить зростання їх рівня в слини, а також зв'язок вмісту IL-17 $\alpha$  з рівнем глюкози в крові, f сироваткового IL-18 – з рівнем HbA1c [302].

При ЦД 2 окрім опосередкованого впливу гіперглікемія безпосередньо уражає кілька типів клітин у тканинах пародонта, включаючи лейкоцити, судинні клітини, мезенхімальні стовбурові клітини, фібробласти періодонтальної зв'язки, остеобласти та остецити, що доведено в експериментах на тваринах [65, 72, 154].

Імунозапальна реакція, спричинена ЦД 2, здатна суттєво погіршити стан пародонта [265]. Порушення адгезії, хемотаксису та фагоцитозу нейтрофілів у хворих на ЦД 2 підвищує патогенність мікрофлори пародонтальних кишень [296]. При цьому посилення взаємодії між макрофагами та моноцитами призводить до збільшення секреції прозапальних цитокінів, такі як IL-1, IL-6 і TNF- $\alpha$ , які активують остеокласти та матриксні металопротеїнази, що призводить до деструкції альвеолярної кістки [60, 89, 97].

Слід зауважити, що гіперглікемія має широкий спектр молекулярних і клітинних ефектів, що призводить до окислювального стресу, посилення прозапальних реакцій і судинних змін, зокрема до ініціації ендотеліальної

дисфункції [121, 187, 327]. Мікроангіопатії, характерні для діабету, також уповільнюють загоєння та погіршують імунну відповідь пародонта тканин до інфекції [182].

При стійкій гіперглікемії цукри з'єднуються з білками або ліпідами з утворенням кінцевих продуктів глікування (AGE), які накопичуються в тканинах пародонта [137, 231, 295]. Рівні AGE в ясенній рідині вищі у пацієнтів з пародонтитом на тлі ЦД 2 [68, 119]. Вони сприяють вивільненню запальних цитокінів IL-1, IL-6 і TNF- $\alpha$ , які додатково підвищують активність остеокластів та прискорюють руйнування колагену [78, 97, 117, 260], що було підтверджено в експерименті на мишах [324].

Продукти перекисного окислення у пацієнтів із пародонтитом на тлі ЦД 2, інгібують диференціацію мезенхімальних клітин в остеобласти, що доведено в експерименті на тваринах [194, 254, 264].

Результати експериментальних досліджень на щурах вказують на те, що індукцибельна синтаза оксиду азоту (iNOS) може бути медіатором запалення під час ушкодження пародонта, викликаного ЦД 2, шляхом посилення резорбції альвеолярної кістки [299].

В мета-аналізі [262] вказується, що згідно даних клінічних спостережень та досліджень на тваринах виявлено підвищення рівнів IL1- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, RANKL/OPG та метаболітів кисню в тканинах пародонта при ЦД 2. Крім того, хворі з ЦД 2 і пародонтитом демонструють високі рівні циркулюючого TNF- $\alpha$ , CRP і медіаторів окислювального стресу [197]. Експериментальні дослідження довели, що TNF- $\alpha$  пригнічує проліферацію і диференціювання остеобластів, сприяє апоптозу остеобластів та активує остеокласти [71, 192]. Однак слід зауважити, що в роботі [223] не було виявлено відмінностей між рівнями TNF- $\alpha$  у хворих на пародонтит при наявності ЦД 2.

Нарешті, осмотичний діурез, який викликає гіперглікемія, призводить до зниження циркулюючих концентрацій кальцію, магнію та фосфору в сироватці крові [258], що спричиняє порушення зворотної регуляції паратгормону, а отже подальшої втрати кальцію [280].

Знижений вміст вітаміну D в сироватці крові в хворих на ЦД 2 – ще один патогенетичний механізм розвитку порушень в альвеолярній кістці [80, 190, 229, 334]. Встановлений зв'язок між низьким вмістом вітаміну D у сироватці крові та частотою ЦД 2 або метаболічного синдрому [161].

Більше двох третин хворих на ЦД 2 мають дефіцит вітаміну D на тлі поганого тривалого контролю рівня глюкози в крові [75]. Це можна пояснити тим, що вітамін D приймає участь в регуляції глюкози [141, 161, 323]. Недавнє дослідження *in vitro* показали, що 25-гідроксивітамін D<sub>3</sub> має позитивний регуляторний вплив на стан пародонта у діабетичних мишей [311].

При пародонтиті спостерігається дефіцит кальцію та вітаміну D, тоді як їх призначення уповільнює резорбцію і прискорює кісткоформування, а також збільшує мінеральну щільність кісткової тканини альвеолярного відростка [63, 102, 184, 199].

Рівні вітаміну D і кальцію обернено корелюють із рівнем глюкози та HbA1c в крові, а також глибиною зондування кишень та клінічною втратою прикріплення [66]. Одночасно, дієтичне обмеження вітаміну D призводить до втрати альвеолярної кістки та посилення запалення в яснах [232]. Вживання вітаміну D з їжею може запобігти прогресуванню захворювань пародонта [74], а 800–1000 МО вітаміну D на день зменшує симптоматику пародонтиту [144].

Однак, зауважимо, що в дослідженні [162] зв'язку між вітаміном D і глюкозою в крові не виявили. Це пояснюється тим, що дефіцит вітаміну D дуже поширений серед населення, що ускладнює інтерпретацію даних [285].

Таким чином, ЦД 2 зумовлює погіршення запально-деструктивного процесу в пародонті через низку етіопатогенетичних механізмів (порушення мікробіозу ротової порожнини, посилення запальної реакції, розлади мікроциркуляції, дисбаланс між активністю остеобластів та остеокластів тощо), що робить майбутні лікарські мішені багатофакторними.

На нашу думку, одним з найбільш перспективних шляхів вирішення проблеми є спрямований вплив на кісткову тканину пародонта задля нормалізації кісткового

метаболізму та мінерального обміну, ефективність чого слід попередньо вивчити в експерименті на тваринах.

### **1.3. Сучасний досвід створення та вивчення ефективності лікування генералізованого пародонтиту в експериментальних моделях цукрового діабету**

Застосування адекватних моделей ЦД 2 в експериментальних тварин, що супроводжуються змінами в кістковій тканині пародонта, є важливим з точки зору розуміння патогенезу та розробки лікування. Експерименти на тваринах дозволяють уявлення про причинно-наслідкові зв'язки, які важко встановити в дослідженнях на людях [154].

Існує ціла низка методів створення експериментальних моделей пародонтиту на тлі цукрового діабету. Найбільш поширеною є модель на щурах, що передбачає відтворення гіперглікемічного стану завдяки панкреатотоксичної дії стрептозотоцину з подальшим накладанням лігатури для пошкодження періодонтальної зв'язки [91, 92, 189, 215, 217, 307]. В такій експериментальній моделі отримано наступні результати досліджень.

За допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції встановлено, що в яснах гіперглікемія посилює експресію мРНК OPG і знижує експресію мРНК остеокальцину. Крім того, на лігованих ділянках альвеолярного відростка спостерігалось збільшення кількості резистентних до тартрату багатоядерних клітин (остеокластів). Останнє дозволило зробити висновок, що дисбаланс кісткового метаболізму при ЦД 2 викликає остеокластоз та активацію втрати альвеолярної кістки [215].

Виявлено, що ЦД 2 може призвести до посиленої продукції TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$  та LPS у тканинах пародонта, що супроводжується значною резорбцією альвеолярної кістки у щурів з експериментальною моделлю пародонтиту на тлі діабету [175]. Експресія TNF- $\alpha$  збільшується, що призводить до зростання рівня остеоцитарного склеростину, який пригнічує формування кісткової тканини [189].

Встановлено, що С-реактивний білок, MMP-2, MMP-14 та TIMP-2 беруть участь у процесі запалення пародонта, пов'язаного з ЦД 2. Значне збільшення експресії запальних маркерів було виявлено у випадках пародонтиту на тлі діабету, у порівнянні з діабетом, накладеним на існуючий пародонтит [121].

Було з'ясовано, що лігатурне зв'язування значно посилює місцеве окислювальне пошкодження, тоді як діабет додатково пригнічує антиоксидантну здатність (спостерігається підвищений рівень малонового діальдегіду та зниження активності супероксиддисмутази). Одночасний пародонтит і цукровий діабет синергічно посилюють як локальне, так і системне окислювальне пошкодження. Крім того, експресія гена та білка Nrf2 значно знижується при діабетичному пародонтиті [205].

У діабетичних щурів із пародонтитом в яснах спостерігається значне збільшення інвазії моноцитів/макрофагів, експресії медіаторів запалення, кількості нітротирозин-позитивних клітин, а також втрата альвеолярної кісткової тканини. Дані явища вдалося зменшити лікуванням інгібітором полі (АДФ-рибозо) полімерази (PARP) [62].

У щурів із імітацією ЦД 2 оцінено реакцію тканин пародонта на механічні сили та обробку кінцевими продуктами глікування (AGE) *in vivo*. Доведено, що регулювання компресійного перевантаження зубів, а також рівнів AGE може виявитися ефективним терапевтичним способом для зниження руйнування альвеолярної кістки, спричиненого діабетичними розладами [238]. Встановлено, що ЦД 2 посилює втрату кісткової тканини при пародонтиті за наявності оклюзійної травми [131].

На стрептозотоциновій моделі ЦД 2 у сукупності з лігатурним зв'язуванням зубів доведено, що прийом  $\beta$ -глюкану (*Saccharomyces cerevisiae*) зменшує системний запальний профіль (рівні TNF- $\alpha$  та IL-10 в крові), а також запобігає втраті альвеолярної кістки та покращує функцію  $\beta$ -клітин [130].

У дослідженні [201] доведено, що антиоксидант астаксантин зменшує втрату альвеолярної кістки за рахунок зниження рівня RANKL та активності OPG при

пародонтиті, спричиненому лігатурою, у щурів з діабетом, отриманим шляхом введення стрептозотоцину.

Нові препарати для лікування діабету, агоністи рецепторів глюкагоноподібного пептиду-1 (GLP-1) та інгібітори дипептидилпептидази-4 (DPP-4) продемонстрували протизапальні властивості та плейотропну дію на метаболізм кісткової тканини. Проте, незважаючи на зниження експресії інтерлейкіну 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), синтази оксиду азоту 2 (Nos2) і матриксної металопротеїнази 9 (MMP 9), препарати не були ефективними для стабілізації або зменшення втрати альвеолярної кістки та деградації колагену при лігатурному пародонтиті у діабетичних щурів [239].

Вивчений вплив системного введення мелатоніну на рівні прозапальних цитокінів, апоптозу, втрати альвеолярної кісткової тканини, метаболізму ліпідів і контролю діабету в стрептозотоциновій моделі [91].

У діабетичних щурів при лігатурному зв'язуванні зубів встановлена протизапальна та остеопротекторна дії ліраглутиду на тканини пародонта. Ліраглутид знижував рівень глюкози в крові та пригнічувала секрецію сироваткових IL-6, TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$ , а також зменшував співвідношення RANKL/OPG [326].

Доведена ефективність застосування антиоксиданту екстракту проантоціанідину з кісточок винограду. Пероральне введення препарату в експериментальній моделі пародонтиту на тлі ЦД 2 зменшувало втрату альвеолярної кісткової тканини за рахунок зниження рівнів MMP-8 і фактору, що викликає гіпоксію, HIF-1 $\alpha$ , а також сприяло підвищенню активності остеобластів [306].

В експерименті зі щурами-самцями доведено, що системне введення фенетилового ефіру кавової кислоти суттєво пригнічує окислювальний стрес, спричинений ЦД 2, і остеокластогенез, викликаний RANKL, а також гальмує втрату альвеолярної кістки [191].

В дослідженні [90] показано, що вживання молока, збагаченого кон'югованою лінолевою кислотою, зменшує втрату альвеолярної кісткової тканини, гіперглікемію, окислювальний стрес і апоптоз при пародонтиті, спричиненому лігатурами, у діабетичних щурів.

Результати дослідження [250] показують, що лігатурний пародонтит у щурів із діабетом призводить до значно вищих рівнів експресії MMP-9 та IL-1 $\beta$  у яснах. Тоді як використання моно- та комбінованого введення клодронату та малих доз доксицикліну значно знижує їх рівень.

Системне введення борної кислоти зменшує втрату альвеолярної кістки при експериментальній моделі пародонтиту на тлі ЦД 2 [92].

Доведено, що антиоксидант таксіфолін при лікуванні втрати альвеолярної кістки при експериментальному пародонтиті у щурів з діабетом, індукованим стрептозотоцином, може зменшувати апоптоз і покращувати формування альвеолярної кістки [200].

Вивчено вплив системного введення антиоксидантного препарату ресвератролу на розвиток експериментального пародонтиту на вивільнення маркерів запалення, метаболізму кісткової тканини та окислювального стресу у щурів з діабетом. Встановлено більшу втрату кісткової маси, зниження рівнів інтерлейкіну (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-17, інтерферону-гамма (IFN- $\gamma$ ) і супероксиддисмутази 1 (SOD), а також рівня нікотинаміаденін-динуклеотидфосфатази (NADPH оксидази). Проведене лікування підвищувало рівні мРНК для остеопротегерину (OPG) та рівень НАДФН-оксидази. Спільне використання ресвератролу та інсуліну знижувало рівні прозапальних факторів (білків або мРНК) і підвищувало рівні SOD [123].

У дослідженні на моделі лігатурного пародонтиту у діабетичних щурів [217] оцінювався вплив ЦД 2 на відновлення кісткової тканини та вироблення цитокінів у щурів з гіперглікемією в залежності від прийому метформіну, препарату, що знижує рівень цукру в крові. У тварин з гіперглікемією, які лікувалися метформіном спостерігався нижчий рівень OPG/RANKL, підвищена експресія остеокальцину і TRAP, SOX9 і RunX2 спостерігалась. Зареєстровано підвищення ex vivo рівнів TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4, IL-10 та IL-17. Гіперглікемія сприяла зростанню рівня IL-10 порівняно з нормоглікемією. Лікування метформіном викликало підвищення рівнів TNF- $\alpha$ , IL-10 та IL-17. Таким чином, встановлено негативний вплив гіперглікемії

та/або лікування метформіном на відновлення кісток через інгібування факторів транскрипції, пов'язаних з диференціюванням остеобластів.

Місцеве введення тілудронової кислоти, що має антирезорбтивні та протизапальні властивості, у дозі 3 мг/кг сприяє захисному ефекту проти руйнування кісткової тканини при експериментальному пародонтиті у щурів із індукованим стрептозотоцином ЦД 2 [248].

Результати дослідження показують, що лікування вітаміном С може бути корисним для зниження сироваткових С-кінцевих телопептидних фрагментів і ясенної ММР-8, маркерів окислювального стресу, запалення та накопичення AGE в тканинах пародонта. Таким чином, вітамін С може розглядатись як імуномодулятор і антиоксидант, здатний зменшити несприятливий вплив діабету на тканини пародонта [307].

На моделі стрептозотоцин-індукованого діабету в міні-свиней доведено, що ЦД 2 індукує морфологічні та епігенетичні зміни в тканинах пародонта, які можуть підвищити ризик розвитку пародонтиту [206].

Альтернативним методом гістологічному дослідженню кісткової тканини щурів в експериментальній моделі лігатурного пародонтиту на тлі стрептозотоцинового діабету є піксельний лінійний аналіз за допомогою цифрової рентгенографії, який дозволяє оцінювати втрати альвеолярної кістки [108]. Мікрокомп'ютерні томограми діабетичних мишей показали зменшення висоти альвеолярної кістки та порушення маси альвеолярної кістки [301]. Мікрокомп'ютерна томографія продемонструвала анаболічний ефект паратиреоїдного гормону на метаболізм альвеолярної кістки в щурів із діабетом [116].

Ще одна модель пародонтиту на тлі ЦД 2 полягає у тому, що щурів годують дієтою з високим вмістом жиру та цукру протягом 8-10 тижнів, а потім багаторазово вводять стрептозотоцин в умовах крижаної бані. Надалі моляри зв'язують лігатурою та накладають хірургічні шви, просочені суспензією *Porphyromonas gingivalis* [272].

Виходячи з того, що діабет – це метаболічний розлад, що супроводжується тривалою гіперглікемією, яка призводить до змін в центральній нервовій системі, для оцінки наслідків пародонтиту, діабету та обох захворювань на дендритну морфологію, тип шипів та щільність нейронів використаний кількісний нейроморфологічний аналіз у щурів за допомогою фарбування за Коксом-Гольджі [140].

Для оцінки дії нового хімічно модифікованого куркуміну створювали дві експериментальні моделі пародонтиту в щурів. В першій групі пародонтит був викликаний ін'єкціями ліпосахариду в ясна; в другій – діабет індукували шляхом ін'єкції стрептозотоцину, при цьому руйнування пародонта ставало ускладненням неконтрольованої гіперглікемії. В обох моделях відбувалася надмірна резорбція альвеолярної кістки, яку гальмував хімічно модифікований куркумін за рахунок інгібування клітинних сигнальних шляхів [134].

У дослідженні [292] експресія генів у тканинах пародонта при пародонтиті профільована у щурів з ЦД 2 порівняно з однопомітними тваринами з нормоглікемією. У віці 8 тижнів щурам накладали лігатуру навколо правого другого моляра верхньої щелепи. Результати цього дослідження вказують на те, що роль ЦД 2 у деструкції кісткової тканини при пародонтиті може реалізовуватися через підвищений рівень ліпополісахаридзв'язуючого білка і знижений рівень цитокінів T-хелперів.

Використовуючи модель трансгенного діабету, ідентифіковане значне старіння тканин пародонта у молодих (18-тижневих) мишей з діабетом, що супроводжувалося накопиченням макрофагів p16+ і посиленням ранньої відповіді у вигляді старіння секреторного фенотипу (SASP). Під впливом високого вмісту глюкози *in vitro* макрофаг кісткового мозку проявляв сильну відповідь, що сприяло підвищеному поглинанню глюкози [310].

В експериментальній моделі пародонтита, яка була реалізована на щурах шляхом відтворення естрогенодефіцитного остеопорозу за рахунок двобічної оваріоектомії, а також імітацією глюкокортикоїдного остеопорозу введенням преднізолону, встановлено, що системні порушення в організмі реалізуються в

тканинах пародонта через різке пригнічення процесів колагеноутворення та мінералізації [26].

Для створення експериментального пародонтиту в щурів шляхом відтворення системного ацидозу використано розчин амонію хлориду протягом 30 діб. Системний ацидоз викликав розвиток запального процесу в тканинах пародонта щурів та супроводжувався суттєвими змінами вмісту основних мінеральних компонентів кісткової тканини альвеолярних відростків нижніх щелеп. Проте встановлено, що препарати метаболічної, цитопротекторної, антиоксидантної дії (мельдонію дігідрат) позитивно впливають на відновлення нормального співвідношення мінеральних елементів в кістковій тканині нижніх щелеп експериментальних тварин [24].

Таким чином, існує позитивний досвід застосування експериментальних моделей пародонтиту на тлі ЦД 2 як для вивчення патогенезу захворювання, так і для розробки методів його лікування. Проте в кожному окремому випадку потрібно обирати модель, що в найбільшій мірі відповідає меті та завданням дослідження.

#### **1.4. Сучасні підходи до лікування генералізованого пародонтиту в хворих із цукровим діабетом 2 типу**

Натепер загальновизнаною є необхідність комплексного лікування генералізованого пародонтиту на тлі ЦД 2. Воно повинно включати в себе заходи, спрямовані на усунення симптомокомплексу ураження тканин пародонта, а також заходи, спрямовані на лікування ЦД 2 [10, 81].

Базове лікування генералізованого пародонтиту в хворих із ЦД 2 полягає в підтриманні нормального рівня глюкози в крові, що дозволяє нормалізувати експресію медіаторів запалення та стану мікросудинного русла в навколорубних тканинах. Надалі хворі потребують ретельного гігієнічного догляду та адекватного місцевого втручання [69, 228, 308].

Гіпоглікемічні препарати, такі як аміногуанідин, метформін, і воглібоза сприяють остеointegraції [173]. Показано, що метформін значно пригнічує місцеве

запалення, викликане пародонтопатогенними мікроорганізмами, зменшує концентрацію цитокінів в ясенній рідині та покращує клінічний стан тканин пародонта у хворих на ЦД 2 [82]. Наразі, препарати метформіну уповільненого вивільнення на основі хітозану проходять клінічне випробування для лікування генералізованого пародонтиту [185].

Хоча призначення антибіотиків діабетикам є спірним через їх аномальну імунну систему, вони більш схильні до місцевої бактеріальної інфекції та запальної інфільтрації. У зазначеного контингенту хворих доведена ефективність місцевого застосування препаратів нітроїмідазолу [230].

Застосування стимуляторів остеогенезу відноситься до прогресивних методів лікування генералізованого пародонтиту [22]. При вивченні клонування стовбурових клітин виявлено різке пригнічення регенераторного потенціалу кісткової тканини у хворих на генералізований пародонтит, що вказує на необхідність раціональної остеостимулювальної терапії [29].

Залежно від механізму дії остеотропні препарати поділяють на дві групи: антирезорбенти, які пригнічують функції остеокластів (препарати кальцію, активні метаболіти, кальцитоніни, бісфосфонати, препарати замісної гормональної терапії) та стимулятори формування кісткової тканини шляхом активації функції остеобластів (похідні фтору, анаболічні стероїди, гормони росту) [5, 36, 56].

У комплексній схемі лікування хворих із прогресуючим генералізованим пародонтитом на тлі ЦД 2 для ліквідації розладів кісткового метаболізму і відновлення ремоделювання кісткової тканини високу ефективність показав комплекс остеотропних препаратів – альфакальцидолу та остеогенону [17].

При наявності середньо-активних і активних вогнищ остеопору в кісткових структурах пародонта, більш доцільним є призначення остеотропних і антирезорбтивних засобів в комплексі з препаратами, що нормалізують гормональний фон. Такими препаратами є «Кальцій-D<sub>3</sub> Нікомед», «Фосамакс» і «Прогінова» [14].

Обов'язковою умовою при вживанні остеотропної терапії є достатнє надходження кальцію та вітаміну D<sub>3</sub> до організму. Він є регулятором як

опосередкованого остеобластами утворення кісток, так і опосередкованої остеокластами резорбції кістки [63, 105, 222]. Вітамін D потрібний для регуляції метаболізму кальцію і фосфору, він сприяє всмоктуванню та відкладенню кальцію в кістці [94, 148, 333].

В останні роки використання добавок вітаміну D<sub>3</sub> для пацієнтів з пародонтитом на тлі ЦД 2 було досліджено через його протизапальний та імуномодуючий ефекти. Доведено, що вітамін D<sub>3</sub> ефективно пом'якшує запалення ясен і резорбцію кісток. Окрім усунення дефектів метаболізму кісткової тканини, вітамін D<sub>3</sub> також зменшує резистентність до інсуліну [329].

У свою чергу, іон стронцію може бути привабливим кандидатом для покращення остеогенної активності при лікуванні захворювань пародонта. Хімічно подібний до кальцію, він може легко замінити кальцій в кістковому матриксі, при цьому активувати остеобласти, стимулюючи формування кісток і зниження резорбції кісткової тканини [277]. У кістці більшість іонів стронцію абсорбується на поверхні кристалів гідроксиапатиту, переважно розподіляючись у новоутвореній губчастій речовині кістки [127, 107].

Іони стронцію відіграють важливу роль, пригнічуючи резорбцію кісток і сприяючи формуванню кісток за допомогою різних сигнальних шляхів [83]. Стронцій сприяє проліферації клітин періодонтальної зв'язки. Одночасно він здатний пригнічувати експресію прозапального цитокіну IL-6 [279].

За результатами експериментальних досліджень було доведено, що іон стронцію послаблює стимульовану ліпосахаридами прозапальну експресію цитокінів та гальмування ранньої остеогенної диференціації клітин періодонта [313].

Відомий досвід використання іонних крос-лінкерів Ca<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup> і Sr<sup>2+</sup> для виготовлення мікросфер альгінат-наногідроксиапатит-колаген (Alg-nHA-Col). В умовах *in vitro* та *in vivo* доведено, що застосований гідрогель, сприяє динамічному росту остеобластів [163].

Цікавою перспективою для використання стронцію є включення його іонів у біоматеріали для інженерії кісткової тканини (кальцій-фосфатну кераміку, біоактивне скло, матеріали на основі металів і полімери). Ця стратегія забезпечує

посилення формування кісток, а також зниження активності остеокластів, дозволяє стимулювати остеогенну/цементогенну диференціацію клітин періодонтальної зв'язки, що підтверджено дослідженнями *in vitro* та *in vivo* [104, 174, 317].

В дослідженнях [95, 110] підтверджено остеогенну роль іонів стронцію зі стимулюючою дією на проліферацію та диференціацію клітин-попередників остеобластів у зрілі остеобласти шляхом індукції експресії остеобластних білків. Дослідження на первинних культурах остеобластів щурів і людини показали, що стронцій, як і кальцій, діє як агоніст рецептора, що сприймає кальцій, сприяючи реплікації, диференціації та виживанню клітин [103, 106]. Крім того, через стимуляцію клітин остеобластів іони стронцію здатні вплинути на остеокластогенез і функцію зрілих остеокластів [171].

Дослідження *in vitro* на первинних клітинах остеобластів людини показали, що іони стронцію індукують підвищення рівнів мРНК і OPG із пригніченням експресії RANKL, таким чином сприяючи зниженню регуляції індукованого остеобластами остеокластогенезу [85].

Іони стронцію сприяють остеогенній диференціації мезенхімальних стовбурових клітин щурів шляхом збільшення експресії кісткового морфогенетичного протеїну-7 (BMP-7), ALP, Cbfa1/RUNX2, кісткового сіалопротеїну та остеокальцину [207, 208].

Дослідження *in vitro* на мезенхімальних стовбурових клітинах мишей продемонструвало, що іони стронцію сприяють диференціюванню остеобластів шляхом індукції синтезу простагландину E2 [122].

В свою чергу, стронцію ранелат – це препарат стронцію, призначений для лікування остеопорозу, який має подвійну дію на кістковий метаболізм: він поєднує в собі антирезорбтивну дію шляхом пригнічення диференціації та активності остеокластів з анаболічним ефектом на формування кісткової тканини шляхом стимуляції диференціації остеобластів, активності та синтезу колагену [169, 220]. Однак, починаючи з 2014 року, використання препарату було піддано деяким обмеженням через його негативні побічні ефекти на кардіологічну безпеку пацієнтів [104].

У дослідженнях на тваринах після лікування стронцію ранелатом спостерігалось збільшення поверхні остеоїду, об'єму кістки та товщини трабекул [219].

Встановлено, що стронцій також стимулює експресію  $\beta$ -катеніну *in vitro*, яке може сприяти посиленій остеогенній диференціації мезенхімальних стовбурових клітин [325].

В експериментальній моделі на щурах показано, що стронцію ранелат знижує активність RANKL та кількість остеокластів, а отже гальмує втрату альвеолярної кістки [180].

Доведено клініко-рентгенологічну ефективність застосування стронцію ранелату та металозаміщеного гідроксиапатиту як матеріалів для кісткових трансплантатів на лікування хронічного пародонтиту у хворих на цукровий діабет [186]. Під дією стронцію ранелату *in vitro* отримані з жирової тканини мезенхімальні стовбурові клітини здатні диференціюватися в остеобласти, виробляючи лужну фосфатазу, колаген, остеокальцин з відкладанням гідроксиапатиту [244].

Утім, попри доведену ефективність стронцію ранелату при системному остеопорозі, його вплив на альвеолярну кістку вивчено недостатньо [221], чому і присвячене теперішнє дослідження.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ, ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Матеріали і методи експериментального дослідження

##### 2.1.1. Обґрунтування методики відтворення експериментальної моделі генералізованого пародонтиту на тлі цукрового діабету 2 типу на щурах

Основною складовою пародонта є сполучнотканинний матрикс, що займає значно більший обсяг, ніж клітини. Відповідно патологічний процес в тканинах пародонта, насамперед, характеризується деструкцією сполучної тканини як м'яких тканин, так і альвеолярної кістки [49]. Виходячи з патогенезу генералізованого пародонтиту, який формується на тлі ЦД 2, створення його експериментальної моделі можливо шляхом ініціації ураження сполучної тканини пародонта внаслідок застосування препаратів, які викликають метаболічні розлади в організмі дослідних тварин, зокрема з причини ураження підшлункової залози.

За аналог розробленої експериментальної моделі нами взято імітацію пародонтиту у щурів, що включає розташування статевозрілих тварин у загальну клітку площею 0,018 м<sup>2</sup> на одну особину. Перед розміщенням у клітку, під ефірним наркозом, використовуючи стоматологічний цемент, у щурів створюється штучна зубна бляшка навколо шийки верхніх та нижніх різців із шорсткою поверхнею, яка занурюється під ясна на 0,1-0,5 мм. При цьому в процесі моделювання пародонтиту тварини отримують подріблену їжу [43].

Дана експериментальна модель дозволяє відтворити роль загального фактору в патогенезі пародонтиту, яким є стресова ситуація, що спричинює продукцію прозапальних гормонів, здатних вплинути на стан тканин пародонта та ініціювати розвиток запально-дистрофічного процесу в них. Проте описана модель не враховує індивідуальну витривалість тварин до стресу, а отже не дозволяє створити подібні зміни в пародонті у всіх щурів, залучених до експерименту. До того ж застосування

стоматологічного цементу в якості місцевого хвороботворного чинника не виправдано, тому що, по-перше, він має низьку адгезивність до емалі та не фіксується на її поверхні протягом тривалого часу, навіть при вживанні подрібленої їжі; по-друге, нанесення цементу навколо шийки зубів щурів із зануренням в ясна є технічно складним і в більшості випадків може призвести до гострої травми періодонтальної зв'язки, що надалі обумовить характер патологічного процесу, який відрізняється від пошукуваного хронічного перебігу генералізованого пародонтиту; в-третьє, зуби щурів постійно зростають, що призводить до міграції шийки зуба протягом усього терміну спостереження. До того ж сукупне формування загального стрес-синдрому та використання стоматологічного цементу, в якості місцевого подразника, не здатні викликати тих суттєвих змін в альвеолярній кістці щелеп, які спостерігаються при пародонтиті, що знижує достовірність експериментальної моделі.

Надалі в якості прототипу було розглянуто спосіб моделювання пародонтиту з ураженням сполучної тканини пародонта, який полягає у введенні щурам з питною водою ксенобіотику пеніциламину (купренілу) в дозі 20 мг на кг маси тіла щурів протягом 55 діб (поспіль 5 днів, перерва 2 дні) [44].

Перевагою запропонованої моделі є застосування для імітації загальних порушень в організмі, що призводять до пошкодження тканин пародонта, пеніциламину (купренілу) – синтетичного препарату, що являє собою за структурою частину молекули пеніциліну, є диметильним похідним амінокислоти цистеїну. Основною властивістю пеніциламину є його висока комплексоутворююча активність відносно іонів металів. Окрім того, препарат впливає на метаболізм колагену, блокуючи його синтез. В свою чергу, зв'язування й видалення з організму міді веде до значної активації колагенази та ушкодження сполучної тканини. Під дією пеніциламину відбувається також інгібування зв'язування поперечних волокон колагену. Препарат також здатний зв'язувати іони міді, ртуті, свинцю й заліза, а також кальцію та магнію. Іон магнію важливий для метаболізму сполучної тканини. Він – четвертий за поширеністю в організмі людини (після натрію, калію й кальцію). Дефіцит магнію призводить до активації гіалуронідаз, так як цей іон входить до

активного центру гіалуроносинтеза, що сприяє погіршенню механічних властивостей ланок гіалуронату й часткової деградації гелю, що утворює основу сполучнотканинного матриксу [34].

В той же час, тканини пародонта багаті на сполучну тканину, яка займає значно більший обсяг за клітини. Основними компонентами даного сполучнотканинного матриксу є фібрилярні білки (колагени та еластини), а також полісахариди (протеоглікани та глікопротеїни). Пародонтит супроводжується деструктивними змінами в сполучній тканині як ясен, так і альвеолярної кістки. Також спостерігається лізис сполучнотканинного прикріплення ясен, тобто періодонтальної зв'язки. Одночасно активуються процеси перекисного окислення ліпідів у мембранах клітин, що призводить до погіршення перебігу запально-деструктивного процесу в пародонті [18].

Таким чином, застосування пеніциламіну в експериментальній моделі в щурів призводить до руйнування сполучнотканинного матриксу пародонта, тому що його основними компонентами є фібрилярні білки (колагени та еластини) і полісахариди (протеоглікани та глікопротеїди). Використання пеніциламіну викликає значну активацію колагенази та ушкодження сполучної тканини пародонта, що обумовлено його високою комплексоутворюючою активністю відносно іонів металів.

На наш погляд, розглянута експериментальна модель наближена до клінічного перебігу пародонтиту у людини, коли захворювання може розвиватися на тлі загальних розладів в організмі попри добрий стан гігієни порожнини рота (відсутність зубних відкладень).

Проте в даній моделі не враховано, що пеніциламін впливає безпосередньо на сполучну тканину пародонта та не імітує загальну фонову патологію, яка впливає на перебіг пародонтиту. Крім того, ефект руйнування кісткової тканини щелеп, що є характерним для пародонтиту, при застосуванні пеніциламіну недостатньо виражений, тому що порівняно зі сполучною тканиною, кісткова має більший ступінь мінералізації.

Отже, при створенні експериментальної моделі, використаної в теперішньому дисертаційному дослідженні, нами поставлено задачу підвищення достовірності

моделювання активної форми пародонтиту, що перебігає на тлі ЦД 2, та характеризується ураженням сполучної тканини пародонта. Для цього нами запропоновано додаткове введення експериментальним тваринам препаратів нікотинамід у та стрептозотоцину.

Таким чином, у запропонованій експериментальній моделі в якості загального фактору, що ініціює розвиток пародонтиту, застосовано імітацію ендокринної патології підшлункової залози, а саме ЦД 2, шляхом відтворення патологічного процесу, що розвивається в тварин за умов застосування діабетогенної речовини – стрептозотоцину.

Природний антибіотик стрептозотин представляє собою N-ацетилглюкозамін, що містить у положенні ацетату залишок нітрососечовини. Тропність стрептозотоцину до  $\beta$ -клітин обумовлена наявністю в складі його молекули глюкози. За її допомогою стрептозотин селективно зв'язується з відповідним переносником у складі плазматичної мембрани клітин, що забезпечує високу акумуляцію препарату в інсулярній тканині. Панкреотоксичність цієї речовини обумовлена різними факторами, зокрема з алкілюючою активністю його метильної групи, яка призводить до фрагментації ДНК  $\beta$ -клітин, у відповідь на що активується фермент полі-(АДФ-рибоза)-полімераза (PARP), що приймає участь у репарації пошкодженої ДНК.

Основним метаболітом стрептозотоцину, з яким в найбільшій мірі пов'язаний його токсичний ефект, є оксид азоту. Експериментально доведено, що завдяки наявності нітрозного залишку стрептозотин здатен неферментативно вивільнювати закис азоту, яка у свою чергу може перетворюватись у високо реактивний пероксинітрит і призводити до розвитку нітрозактивного стресу у клітині. До того ж закис азоту у  $\beta$ -клітинах може активувати гуанілатциклазу, що призводить до підвищення рівня циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ), інгібування мітохондріальної аконітази та порушень аеробного окислення глюкози, і як наслідок, пригнічення глюкозостимульованої секреції і синтезу інсуліну. Зниження активності аконітази, яка залучена у цикл Кребса, призводить до повного виснаження внутрішньоклітинних запасів НАДФ і АТФ, що і є безпосередньо

причиною некрозу  $\beta$ -клітин [202].

Для відтворення експериментального еквівалента ЦД 2 тваринам додатково після попередньої 24-годинної депривації їжі (при збереженому доступі до води) одноразово внутрішньочеревно вводили водний розчин нікотинаміду за 15 хвилин до введення стрептозотоцину. Попереднє введення нікотинаміду підвищувало стійкість  $\beta$ -клітин острівців Лангерганса до цитотоксичної дії стрептозотоцину. Отже, застосована комбінація дозволила відтворити стан, наближений до ЦД 2, який проявляється помірною та стабільною гіперглікемією, порушенням толерантності до глюкози, глюкозурією без ацидозу та зростанням маси тіла [300].

Таким чином, запропонована експериментальна модель генералізованого пародонтиту на тлі ЦД 2 у щурів реалізована в представленій дисертаційній роботі наступним чином.

### **2.1.2. Застосовані в дослідженні експериментальні моделі на щурах**

Експериментальні дослідження проведено на 30 білих щурах-самцях лінії Вістар віком 4 місяці, масою 230-250 г.

Тварини знаходилися на стандартному раціоні та в стандартних умовах віварію Дніпровського державного медичного університету (температура повітря:  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , світлий/темний цикл: 12/12 годин) відповідно до санітарно-гігієнічних норм та отримували їжу та пиття *ad libitum* (рис. 2.1).



Рис. 2.1. Щури в умовах експерименту

Усі процедури (анестезія, введення лікарських засобів, виведення тварин з експерименту, тощо) повною мірою відповідали принципам Директиви № 2010/63/ЄС про захист тварин, що використовуються з науковою метою (2010), закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» та висновку комісії з питань біомедичної етики ДДМУ (Протокол № 6 від 7 лютого 2018 р.).

Експериментальних щурів поділили на три однакові групи по 8 тварин (до першої групи входили тварини з експериментальним ЦД 2, відтвореним завдяки введенню нікотинаміду та стрептозотоцину; у другій групі додатково вводили пеніциламін (Cuprenil®, Teva, Польща); у третій, крім того, застосовували стронцію ранелат (Bivalos®, Les Laboratoires Servier, France), четверта група - інтактні тварини (n=6).

Для відтворення експериментального еквівалента ЦД 2 всім дослідним тваринам після попереднього 24-годинного голодування (при вільному доступі до води) вводили одноразово внутрішньочеревно водний розчин нікотинаміду (Sigma-Aldrich, США) (230 мг/кг) і через 15 хвилин – стрептозотин (Sigma-Aldrich, США) у дозі 65 мг/кг у вигляді 5 % розчину в цитратному буфері, pH 4,5 [52, 188, 262].

Для подальших досліджень використовували лише тварин з підвищеним вмістом глюкози (8-14 ммоль/л). Рівень глюкози в крові визначали на третю добу після введення препаратів і 6-годинної перерви в харчуванні з вільним доступом до

води. Визначення концентрації глюкози проводили за допомогою глюкометра Optium Omega (Abbott Diabetes Care Inc., США) в крові, отриманій шляхом скарифікації кінчика хвоста тварини.

На 14 добу проведено повторне вимірювання вмісту глюкози натще та за умов навантаження глюкозою для виявлення порушень толерантності в оральному тесті. Усіх тварин контрольної та дослідних груп перед дослідженням піддавали 12-годинному голодуванню при вільному доступі до води (концентрацію глюкози визначали натщесерце), тому цю пробу вважали вихідною (контрольною). Глюкозу вводили одноразово перорально у вигляді 40,0 % водного розчину в розрахунку 2,0 г/кг маси тіла. Оцінювали динаміку змін рівня глюкози в крові у вихідному стані та через 30, 60, 90 і 120 хвилин після прийому глюкози. Площі під глікемічними кривими (blood glucose area under the curve, AUCglu) були розраховані за допомогою програмного забезпечення GraphPad Prism 8.0 [142]. Після проведеного тесту на визначення толерантності до глюкози, тварини рандомно були розподілені на 3 експериментальні групи (n=8 у кожній).

Щурам другої та третьої дослідних груп (n=16) із діагностованими порушеннями вуглеводного обміну давали питну воду з пеніциламіном (Cuprenil®, Teva, Польща, № серії 16525016) у дозі 20 мг/кг маси тіла щура 7 днів на тиждень протягом 55 діб, починаючи з 6 доби після відтворення ЦД 2, тобто після позитивного тесту на виявлення порушень толерантності до глюкози [41].

Тваринам третьої дослідної групи (n=8) вводили стронцію панелат (Bivalos®, Les Laboratoires Servier, France, № серії 617687) внутрішньошлунково в дозі 250 мг/кг один раз на добу протягом останніх 28 діб експерименту. Доза препарату перебувала в діапазоні терапевтичних (ED 50), які рекомендовані в експериментальних дослідженнях згідно з формулою перерахунку [276].

Контрольна група тварин отримувала питну воду у відповідні періоди експерименту.

На 60 добу експерименту усі тварини були виведені з експерименту шляхом введення тіопенталу натрію (50 мг/кг, внутрішньоочеревинно). Зразки венозної крові в об'ємі 5 мл отримані шляхом пункції правого шлуночка серця.

Рівні глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) визначені спектрофотометрично у цільній крові за допомогою стандартного тест-набору (“ПрАТ Реагент”, Україна) і виражалися в мкмоль фруктози/г Hb [142].

Підготовку сироватки крові до біохімічного дослідження здійснювали наступним чином. Для цього наповнені кров’ю пробірки ставили у водяну баню за температури +37 °C до утворення згустку (20-30 хв), який відокремлювали скляною паличкою від стінок пробірки. В подальшому, вміст пробірок центрифугували протягом 15 хв при 3000 об/хв.

У сироватці крові щурів визначали активність лужної і кислої фосфатаз, а за їх співвідношенням розраховували індекс здатності кісткової тканини пародонта до мінералізації [27].

Для підготовки проб для гістологічних досліджень після проведення декапітації, вивільнені тканини нижньої щелепи фіксували у 10 % розчині формаліну на фосфатному буфері (pH 7,0).

### **2.1.3. Вивчення мінеральної щільності нижніх щелеп щурів за допомогою методу комп’ютерної томографії**

Мінеральну щільність кісткової тканини (BMD) альвеолярних частин нижніх щелеп щурів вивчали за допомогою методу комп’ютерної томографії з використанням апарату Planmeca ProMax 3D Mid (Finland) із застосуванням програмного забезпечення Planmeca Romexis Viewer (рис. 2.2 та 2.3).



а



б

Рис. 2.2. Проведення комп'ютерної томографії нижніх щелеп щурів:  
а – апарат Planmeca ProMax 3D Mid із застосуванням програмного забезпечення Planmeca Romexis Viewer, б – укладка голів щурів на столику

Застосування методики комп'ютерної томографії в представленому експерименті є цілком виправданим з позицій того, що це – сучасний метод променевої діагностики, який є більш об'єктивним аніж рентгенологічний. Зображення на комп'ютерній томограмі більш об'єктивне, тому що не залежить від тінеутворення, а визначається морфологічним субстратом. Інтерпретація результатів є більш простою та послідовною. До того ж дана методика дозволяє отримати об'єктивні цифрові показники мінеральної щільності кісткової тканини (BMD), які можна порівняти одне з одним. Натепер відомий позитивний досвід використання методики комп'ютерної томографії в експериментах на тваринах [20].



а



б

Рис. 2.3. Проведення комп'ютерної томографії нижніх щелеп щурів:  
а – загальний вид; б – остаточне розташування голів на столику

Визначення мінеральної щільності кісткової тканини проводили на підставі математичної реконструкції коефіцієнтів послаблення, які виражалися в одиницях Хаунсфілда (Hounsfield units, HU). В якості зон дослідження обрано тіло нижньої щелепи в ділянці кута [19].

#### **2.1.4. Дослідження хімічного складу зразків нижніх щелеп експериментальних щурів**

Вміст хімічних елементів в зразках нижніх щелеп визначали методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою на спектрометрі фірми Thermo Fisher Scientific (модель iCAP 7000 Duo (модифікація iCAP 7200 Duo), заводський номер IC72DC164705).

У щурів виділяли блоки нижніх щелеп. Навіски подрібненої кісткової тканини щурів першої, другої, третьої та контрольної груп поміщали у фторопластовий циліндр, приливали концентровану азотну кислоту, накривали часовим склом та

розміщували у термоблоці з температурою 115°C на 0,5-1,0 години до повного розчинення проби. Прозорий розчин, що отримували, кількісно переносили в мірну поліпропіленову пробірку, тричі змиваючи зі стінок фторопластового циліндру, та доводили деіонізованою водою до об'єму 10 мл. Потім додавали внутрішній стандарт скандію до 0,2 мг/л. Ретельно закривали кришкою, перемішували та віддавали на аналіз.

Застосована методика дозволила встановити кількісний вміст таких елементів як срібло, алюміній, миш'як, золото, барій, берилій, вісмут, бор, кальцій, кадмій, кобальт, хром, мідь, залізо, галій, германій, ртуть, калій, літій, магній, марганець, молібден, натрій, нікель, свинець, платина, рубідій, фосфор, сурьма, селен, олово, стронцій, титан, талій, ванадій, вольфрам, цинк тощо) у біосубстраті кісткової тканини альвеолярних частин нижніх щелеп щурів.

### 2.1.5. Морфологічні методи дослідження

*Гістологічні методи.* Ліву половину нижньої щелепи дослідних тварин у ділянці першого та другого молярів препарували, відокремлюючи м'які тканини, фіксували у 10% розчині формаліну (рН 7,4) впродовж 24 годин при кімнатній температурі та декальцифікували у 10 % розчині етилендіамінтетраоцтової кислоти (EDTA) з коригуванням рН до 7,4 протягом 5 тижнів при 4°C [328].

Потім отримані зразки зневоднювали у висхідних концентраціях ізопропанолу, очищували у ксилолі та інфільтрували парафіном. Підготовлені тканини заливали в парафінові блоки, з яких отримували серійні зрізи у сагітальній площині товщиною не більше 4 мкм за допомогою мікротому Thermo HM 355S (Thermo Scientific, Німеччина).

Зрізи кожного зразку тканини використовували для загального гістологічного забарвлення за допомогою трихрому Масона у модифікації Голднера. Перед фарбуванням, зрізи депарафінізували у ксилолі, регідратували у низхідних (100, 95, 70 %) концентраціях ізопропанолу та занурювали в рідину Буена (10% формалін у насиченому розчині пікринової кислоти) для додаткової фіксації з метою покращення ядерного забарвлення упродовж 1 години.

Після промивання у дистильованій воді зрізи фарбували у залізному гематоксиліні Вейгерта, до складу якого входили гематоксилін та хлорид заліза (Sigma, Німеччина) протягом 10 хвилин. Потім зрізи знов промивали у проточній воді протягом 20 хвилин. Забарвлювали в розчині кислого фуксину (Sigma, Німеччина) та яскраво-червоного ксилідину (Sigma, Німеччина) упродовж 10 хвилин, потім ще 10 хвилин протруювали зрізи у 2% розчині фосфомолібденової кислоти (Sigma, Німеччина). Після протруєння зрізи занурювали в розчин світло-зеленого жовтуватого SF (Sigma, Німеччина) на 10 хвилин. Потім дегідрували у висхідних концентраціях алкоголю, просвітлювали у ксилолі та розміщували в заключне середовище під покривні скельця.

Окрім того, застосовували гістохімічне забарвлення зрізів для визначення активності тартрат-резистентної кислої фосфатази (TRAP) [235]. Депарафінізовані зрізи інкубували протягом 30–60 хвилин при 37°C у субстратному середовищі, що складалося з 0,2 % нафтол-фосфату AS-BI (Sigma, Німеччина), 1 % міцної червоно-фіолетової солі (Sigma, Німеччина) та 6 % винної кислоти, розведених у 0,2 М буферному розчині ацетату натрію (pH 4,8) [236]. Після інкубації скельця промивали у дистильованій воді та швидко (30 секунд) дофарбовували фоновим барвником – міцним зеленим (Sigma, Німеччина). Потім знову дегідрували в ізопропанолі, просвітлювали у ксилолі та розміщували у заключне середовище під покривні скельця.

Мікроскопія гістологічних зрізів проводилася за допомогою мікроскопу Axio Imager 2 (Zeiss, Німеччина). Для гістоморфометричної оцінки резорбції кістки підраховували кількість TRAP-позитивних багатоядерних клітин (остеокластів) у міжрадикулярній кістковій тканині та в альвеолярній кістці, що прилягала до коренів другого моляра. Підрахунок проводили на збільшенні  $\times 200$  у 5 стандартних полях зору в кожному зразку.

*Гістоморфометричні дослідження.* Морфометричний аналіз був проведений з використанням безкоштовної програми для аналізу цифрових зображень ImageJ (автор розробки Wayne Rasband в Research Services Branch, National Institute of

Mental Health, Bethesda, Maryland, USA) та ліцензійної версії програми ZEN (Carl Zeiss AR, Німеччина).

У міжрадикулярній кістці першого нижнього моляра визначали наступні гістоморфометричні параметри:

- співвідношення площі кісткової тканини (ПК) до загальної площі усіх тканин (ПТ) у відсотках. Цей показник відповідав частці трабекулярної кісткової тканини до загального кісткового об'єму, до складу якого окрім трабекулярної кістки, входять кістковий мозок та періодонтальна зв'язка;

- кількість остеокластів ( $N_{(OKL)}$ ) на ділянку в міжрадикулярній кістці ( $N_{(OKL)}/mm^2$ ). При цьому враховували критерії гістологічного визначення: клітини, які мали 2 або більше ядер і були близькі до кісткових трабекул, вважались остеокластичними клітинами.

- щільність клітин запального інфільтрату (нейтрофіли, еозинофіли, лімфоцити, плазмоцити та макрофаги) [252, 281].

*Імуногістохімічні методи.* В роботі досліджували експресію неколагенових білків кісткового матриксу – остеокальцину та остеопонтину, які ілюструють процеси мінералізації та дозрівання кісткового матриксу, а також описують рівень активності остеобластів [149].

Зрізи товщиною 3-5 мкм наносили на адгезивні предметні скельця Superfrost (Thermo, Німеччина), далі зрізи депарафінізували ксилолом. Активність ендогенної пероксидази блокували 3 % розчином перекису водню у 70 % метанолі протягом 20 хвилин при кімнатній температурі.

Потім зрізи промивали у трьох змінах натрій-фосфатного буферу (PBS) з наступним проведенням теплового антигенного демаскування (HIAR – heat induced antigene retrieval) шляхом нагрівання на водяній бані в цитратному буфері з pH=6.0 (упродовж 30 хвилин після досягнення температури 98°C) із симетричним розташуванням скелець у кюветі з додаванням 2 мл детергенту Triton-X100 (Sigma, Німеччина) на 200 мл цитратного буферу. Після промивання у трьох змінах PBS, скельця розташовували на планшеті з вологою підкладкою та інкубувалися з розчином блокуючої сироватки (Normal Goat Serum – відповідно до видової

приналежності вторинних антитіл) у 1% BSA (бичачий сироватковий альбумін) протягом 20 хвилин. В якості первинних використовувались антитіла до остеокальцину (розведення 1:800) та остеопонтину у розведенні 1:400 (усі – Abcam, Великобританія).

Проводили інкубацію зрізів з первинними антитілами у вологій камері при температурі 4°C упродовж ночі. В якості вторинних антитіл застосовували біотинільовані антимишачі та антикролячі імуноглобуліни (Novus Biologicals) та інкубували при кімнатній температурі протягом 30-40 хвилин. Подальшу обробку проводили з використанням системи візуалізації Vectastain Elite ABC Kit (Biozol Diagnostica, Німеччина) протягом 30-40 хвилин при кімнатній температурі. Після цього проводили реакцію з хромогеном DAB (Thermo Scientific, Німеччина), оцінюючи якість взаємодії під контролем мікроскопу від 20 секунд до 3 хвилин. Для диференціювання структур тканин зрізи додатково фарбували гематоксиліном Джила протягом 3 хвилин.

Підсумовуючи, при гістологічному дослідженні кісткової тканини проводили морфологічну оцінку щільності кісткової тканини за показниками відношення площі кісткової тканини (ПК) до загальної площі всіх тканин (ПТ) у місці розташування першого нижнього моляра (ПК/ПТ); за індексом площі кортикальної пластинки нижньої щелепи в ділянці альвеолярного відростка; за індексом якісних та кількісних змін експресії неколагенових білків кісткового матриксу – остеопонтину та остеокальцину; за наявністю лейкоцитарної інфільтрації тканин і клітинним складом запального інфільтрату.

## **2.2. Об'єкти та методи клініко-рентгенологічного та біохімічного обстеження**

Контингент хворих для клінічної апробації формувался з хворих на генералізований пародонтит I-II ступеня тяжкості, які звернулися за пародонтологічною допомогою на кафедру терапевтичної стоматології Дніпровського державного медичного університету.

Всі проведені дослідження схвалені комісією з питань біомедичної етики Дніпровського державного медичного університету та проведені згідно з письмовою згодою учасників і відповідно до принципів біоетики, викладених у Гельсінській декларації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людей» та «Загальній декларації про біоетику та права людини (ЮНЕСКО)».

Критеріями відбору до дослідження були молодий вік (за ВООЗ – до 45 років), сприятливий кардіологічний анамнез, інтактні зубні ряди, фізіологічні види прикусу.

В дослідження залучали хворих із компенсованою формою ЦД 2; при відсутності змін в терапії, що підтримує, весь термін пародонтологічного лікування; відсутності будь-якого лікування тканин пародонта протягом попередніх 6 місяців; відсутності інших тяжких супутніх захворювань, а також вагітності.

Відібрані хворі повинні були відповідати «загальносвітовому консенсусу за критеріями» з уточненнями Міжнародної федерації з цукрового діабету. Необхідні дані отримували з анамнезу у вигляді виписки з історії хвороби або шляхом додаткових лабораторних досліджень.

Дослідження стану тканин пародонта здійснювали, використовуючи клінічні та параклінічні критерії. Для верифікації запально-деструктивного процесу в навкол зубних тканинах використовували класифікацію хвороб пародонта за М. Ф. Данилевським [18].

Таким чином, до клінічної апробації розробленої схеми лікування було залучено 60 хворих на генералізований пародонтит I-II ступеня тяжкості, хронічного перебігу, віком 35-45 років, нарівно чоловіків та жінок, що мали компенсовану форму ЦД 2 (табл. 2.1).

Із зазначених хворих було сформовано дві дослідні групи, рівнозначні за віком, статтю, перебігом ЦД 2 та клінічною картиною в порожнині рота (основна група та група зіставлення).

Таблиця 2.1

**Характеристика об'єктів клінічного дослідження**

| Характеристика обстежених осіб                  | Кількість спостережень (n=60) | %    |
|-------------------------------------------------|-------------------------------|------|
| Стать:                                          |                               |      |
| - чоловіки                                      | 30                            | 50,0 |
| - жінки                                         | 30                            | 50,0 |
| Генералізований пародонтит хронічного перебігу: |                               |      |
| - I ступеня                                     | 32                            | 53,3 |
| - II ступеня                                    | 28                            | 46,7 |

У хворих групи зіставлення застосовували традиційну схему лікування генералізованого пародонтиту: видалення зубних відкладень, вибіркоче пришліфовування, за показаннями шинування зубів скловолоконними шинами, кюретаж пародонтальних кишень, місцева антибактеріальна і протизапальна терапія. В якості загального антимікробного лікування призначали перорально «Амоксиклав» по 875 мг щодня курсом 7 днів, як засіб остеотропної терапії застосовували препарат «Остеогенон» по 2 таблетки на добу протягом 3 місяців.

Хворим основної групи додатково призначали стронцію ранелат (Bivalos<sup>®</sup>, Les Laboratoires Servier, France, № серії 617687) у дозі 2 г один раз на добу перорально перед сном, через 2 години після вживання їжі курсом 1 місяць.

Стан тканин пародонта визначали в динаміці лікування за суб'єктивними (збір скарг) та об'єктивними критеріями (клінічні показники, зокрема індексна оцінка стану гігієни порожнини рота та пародонтального статусу [19], даними ортопантомографії та комп'ютерної томографії).

При цьому клінічне дослідження хворих на генералізований пародонтит проводили за традиційною методикою [18]. Насамперед, з'ясовували скарги та анамнез захворювання (тривалість та динаміку його перебігу, характер та ефективність лікування, що здійснювалось).

При огляді порожнини рота визначали вид прикусу, наявність дефектів зубних рядів та зубощелепних деформацій, особливості оклюзійних співвідношень, стан окремих зубів та зубних рядів (цілісність та характер відновлення дефектів).

При оцінці пародонтального статусу здійснювали візуальне обстеження ясен, встановлювали їх колір, кровоточивість, щільність, набряклість, рецесію ясенного краю, ступінь втрати епітеліального прикріплення. Вимірювали глибину пародонтальних кишень за допомогою калібрувального пародонтального зонда з усіх поверхонь уздовж вертикальної осі. Визначали ексудацію з кишень, її кількість та характер. Досліджували рухомість зубів пальпаторно.

Для описання стану гігієни ротової порожнини та стану тканин пародонта використали індексну оцінку [18]. Для описання гігієни порожнини рота застосовували індекс гігієни порожнини рота ІГ (за Федоровим-Володкіною). Для описання запального процесу в яснах використовували індекс гінгівіту РМА (Papillary Marginal Alveolar Index, папілярно-маргінально-альвеолярний індекс). Для об'єктивізації пародонтального статусу розраховували три пародонтальних індекси: індекс Рамфйорда, пародонтальний індекс (ПІ) та комплексний пародонтальний індекс CPITN (Community Periodontal Index of Treatment Needs, комплексний пародонтальний індекс потреби у лікуванні).

Для оцінки стану кісткової складової пародонта, уточнення діагнозу та визначення ефективності проведеного лікування нами використана традиційна для клінічної практики методика ортопантомографії [2]. Для об'єктивізації отриманих даних рентгенологічного дослідження розраховували індекс активності остеопорузу в альвеолярній кістці [36].

Окрім того додатково застосовували комп'ютерну томографію для визначення мінеральної щільності кістки (BMD) – кількості кісткової тканини в певному об'ємі. На показник мінеральної щільності щелеп впливають як системні остеопенічні порушення, так і резорбція альвеолярної кістки, пов'язана з місцевим запальним процесом у пародонті. Досліджено, що найвищі показники BMD реєструються в передній ділянці нижньої щелепи і найнижчі – у передній і премолярній ділянках

верхньої щелепи. Проте достовірних відмінностей в значеннях BMD для верхньої та нижньої щелепи не встановлено [160].

Мінеральну щільність кісткової тканини (BMD) визначали в одиницях Хаунсфілда (Hounsfield units, HU) за допомогою методу комп'ютерної томографії з використанням апарату Planmeca ProMax 3D Mid (Finland) із застосуванням програмного забезпечення Planmeca Romexis Viewer. За розрахунків брали значення мінеральної щільності кісткової тканини тіла нижньої щелепи в проекції центральних різців, для верхньої щелепи – в проекції перших молярів (обчислювали середнє арифметичне для правої та лівої сторін) [57].

Шкала щільності сірого на моніторі включала 4096 значень від -1024 HU до +3071 HU. При цьому щільність кісткової тканини в ділянці трьохмірної реконструкції уточнювали шляхом її синхронізації з даними мінеральної щільності зрізів [48].

Для оцінки структурно-функціонального стану кісткової тканини і для диференційованого призначення остеотропних препаратів при плануванні лікування генералізованого пародонтиту визначали біохімічні маркери кісткового ремоделювання [46].

Для проведення біохімічних досліджень використано метод імуноферментного аналізу (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)), який оснований на виявленні антигенів та антитіл із визначенням комплексу антиген-антитіло за рахунок введення в один із компонентів реакції ферментативної мітки з подальшою її детекцією з використанням відповідного субстрату, що змінює своє зафарбовування [4]. Нами були застосовані відповідні комерційні набори реагентів (Immundiagnostik, Німеччина), які використовували відповідно до інструкцій виробника на імуноферментному аналізаторі Lab Line-90 (Австрія).

Для оцінки стану кісткового метаболізму визначали активність маркерів кісткової резорбції: активність тартратрезистентної кислої фосфатази (TRAP, Tartar Resistant Acid Phosphatase) в сироватці крові з використанням набору Bone-TRAP (IDS) та вміст фрагментів  $\beta$ -CrossLaps у сечі за допомогою тест-системи Serum CrossLaps (Osteometer). Для стандартизації екскреції  $\beta$ -CrossLaps брали другу

ранкову спонтанну порцію сечі з наступною нормалізацією його концентрації до кількості креатиніну в пробі. Результати розраховували в нг  $\beta$ -CrossLaps до 1 г креатиніну.

В якості маркерів остеогенезу визначали концентрацією С-кінцевого пропептиду проколагену І типу у плазмі крові із застосуванням методу імуноферментного аналізу за допомогою діагностичного набору Metra CIPС EIA Kit (Quidel Corporation, США); кісткової лужної фосфатази (BAP, Bone-Specific Alkaline Phosphatase) в сироватці крові – кінетичним колориметричним методом та остеокальцин крові – тест-набором N-MID Osteocalcin ELISA (США).

У дослідних хворих вивчали показники мінерального обміну, зокрема концентрацію паратиреоїдного гормону в сироватці крові із використанням тест-системи «I-PTH ELISA» (DSL, США); вміст загального кальцію крові колориметричним методом з ортокрезолфталейном; рівень загального неорганічного фосфору крові колориметричним методом за реакцією з ванадатмолібдатним реактивом.

Клінічні дослідження проводили до та відразу після лікування (через 1 місяць від початку). У віддалений термін (через 1 рік) додатково до клінічних спостережень проводили ортопантомографію, комп'ютерну томографію та біохімічні дослідження.

### 2.3. Статистичні методи дослідження

Статистична обробка даних проводилася на персональному комп'ютері з використанням пакета прикладних програм Microsoft Excel 2010 (ліцензійний номер 02260-018-0000106-48794) і Statistica 6.1 (серійний номер AGAR909E415822FA).

Для опрацювання даних використовували традиційні методи описової та аналітичної статистики. За результатами перевірки відповідності розподілу показників нормальному закону за критерієм Колмогорова-Смирнова та Шапіро-Уїлка, встановлено відсутність такого розподілення змінних на деяких етапах дослідження в окремих групах, однак у більшості випадків гіпотеза про нормальний

закон розподілу підтверджувалася. Отже, нами застосовані параметричні методи описової та аналітичної статистики.

В роботі застосовували наступні статистичні показники: кількість спостережень ( $n$ ), середні арифметичні величини ( $M$ ) з приведенням стандартної помилки середнього ( $m$ ), відносні величини (%), рівень статистичної значимості ( $p$ ).

Під час аналізу результатів досліджень розраховували узагальнюючі статистичні показники; визначали відмінності між показниками дослідних груп за статистичними критеріями. Проводився розрахунок  $t$ -критерію за Стьюдентом для незалежних змінних, а також  $T$ -критерію за Стьюдентом для залежних змінних – для встановлення відмінностей, які описують зміни показників в процесі лікування. При множинних порівняннях використовувалися поправки Бонферроні та Холма.

Оцінка вірогідності різниці відносних показників з використанням критерію Хі-квадрат ( $\chi^2$ ) Пірсона, в тому числі з поправкою Йейтса на безперервність.

Критичне значення рівня статистичної значущості при перевірці нульових гіпотез приймалося рівним 0,05. Відмінності показників, що порівнювалися, приймалися за достовірні при значеннях  $p < 0,05$  [1].

Матеріали щодо обґрунтування методики створення експериментальної моделі генералізованого пародонтиту на тлі ЦД 2 у щурів представлені в друкованих працях [33, 45, 227].

### РОЗДІЛ 3

#### **БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ КІСТКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ, МІНЕРАЛЬНА ЩІЛЬНІСТЬ ТА ХІМІЧНИЙ СКЛАД НИЖНЬОЩЕЛЕПНИХ КІСТОК ЩУРІВ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ МОДЕЛЯХ ГЕНЕРАЛІЗОВАНОГО ПАРОДОНТИТУ ТА ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ СТРОНЦЮ РАНЕЛАТУ**

На 60 добу проведення експерименту нами отримана різна картина стану тканин пародонта у щурів із сформованих дослідних груп (рис. 3.1).

У щурів контрольної групи, в яких не використовували жодних медичних препаратів, стан тканин, що оточували зуби, характеризувався відсутністю запальних явищ, слизова оболонка була блідою, без набряків та крововиливів (рис. 3.1 а).

У щурів першої та другої дослідних груп, навпаки, в навкол зубних тканинах спостерігались явища гострого запалення, слизова була гіперемована, набрякла. Навколо зубів визначалися кишені з ексудативним вмістом. Зареєстрована рухомість зубів, що перевищує фізіологічну (рис. 3.1 б, в).

У щурів третьої групи дослідження спостерігалось запалення тканин пародонта, проте запальні явища мали дещо менш виражений характер. Порівняно з тваринами першої та другої груп слизова була менш гіперемована, з менш вираженою набряклістю, патологічні кишені були відсутні. Зуби були стійкими з рухомістю в межах фізіологічної (рис. 3.1 г).

Надалі, за результатами біохімічного дослідження сироватки крові, встановлено достовірне зростання рівня глюкози в щурів усіх дослідних груп порівняно з показниками контролю (рис. 3.2).

Як видно з рисунка 3.2, рівні глюкози натще (вихідний фон) в крові тварин з ЦД 2 були статистично вищими показників, зафіксованих у контрольній групі.



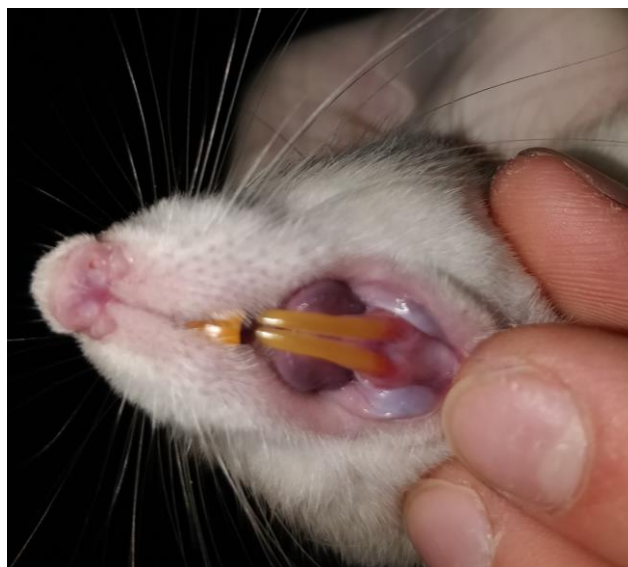
а



б



в



г

Рис. 3.1. Стан пародонта щурів із різних дослідних груп:

а – контроль; б – перша; в – друга, г – третя

Свідченням наявності ЦД 2 типу були і результати глюкозотолерантного тесту, представлені на рисунках 3.3-3.4, а також рівні глікозильованого гемоглобіну (рисунок 3.5).

Показники активності кислої та лужної фосфатаз, а також індексу мінералізації кісткової тканини у щурів в експериментальних групах представлені в табл. 3.1.

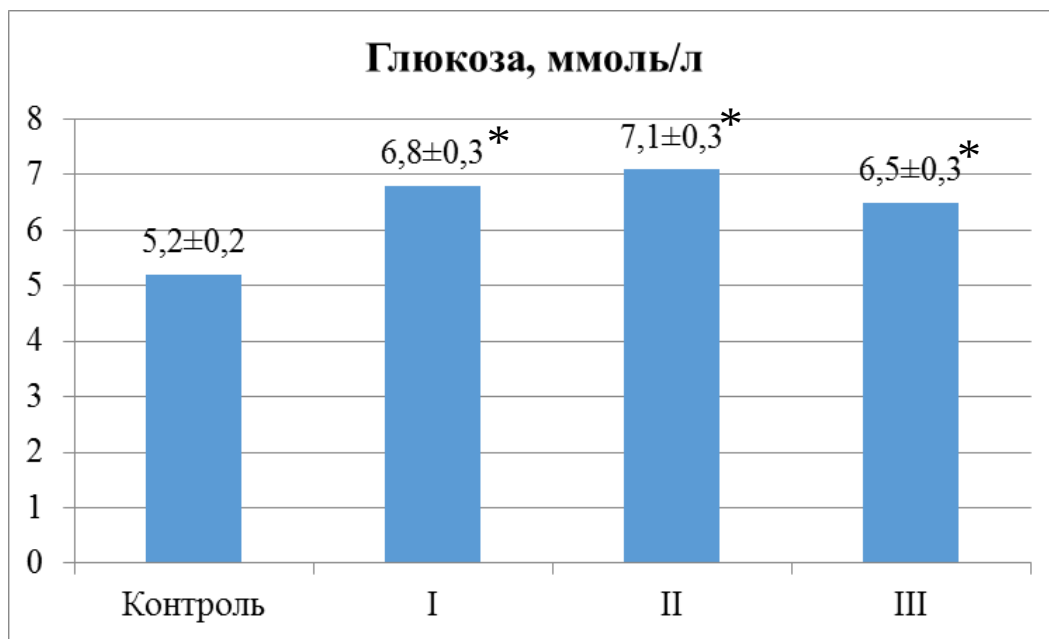


Рис. 3.2. Вміст глюкози натще (вихідний фон) в сироватці крові щурів із різних груп дослідження ( $M \pm m$ ,  $p < 0,05$  до групи інтактних тварин)

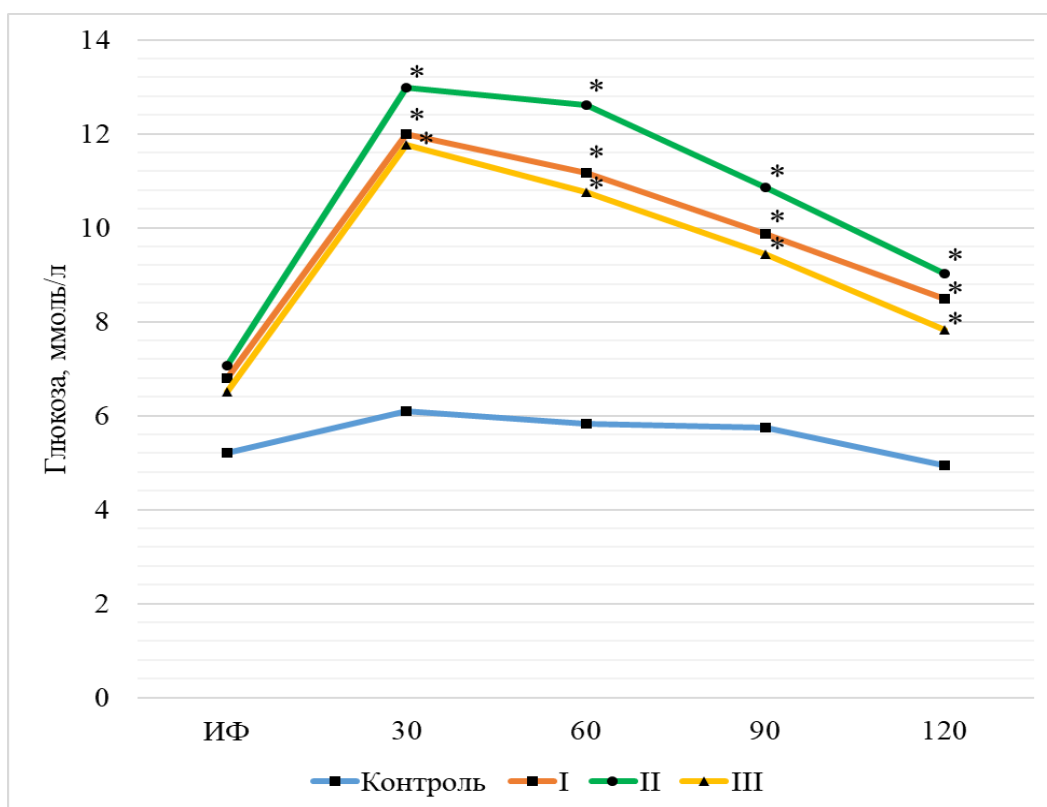


Рис. 3.3. Глікемічні криві щурів на 14 добу дослідження ( $M \pm m$ ,  $p < 0,05$  до групи інтактних тварин у відповідний проміжок часу)

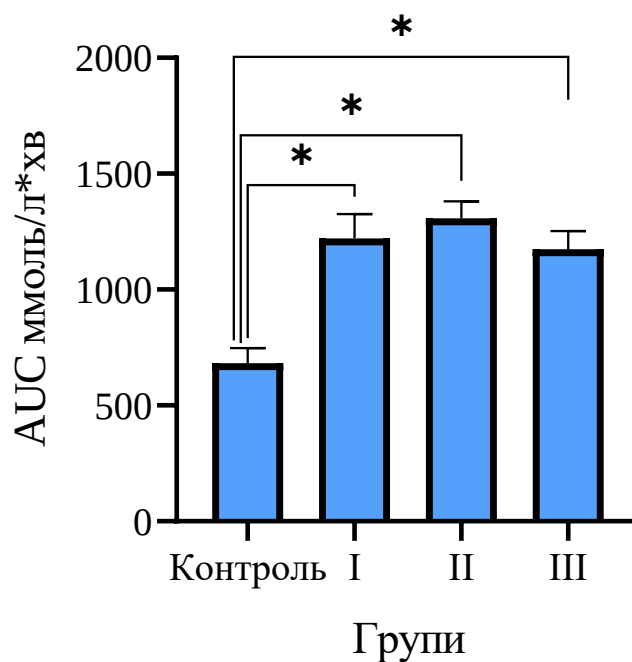


Рис. 3.4. Площі під глікемічними кривими (AUC<sub>glu</sub>) у щурів експериментальних груп на 14 добу дослідження ( $M \pm m$ ,  $p < 0,05$  до групи інтактних тварин)

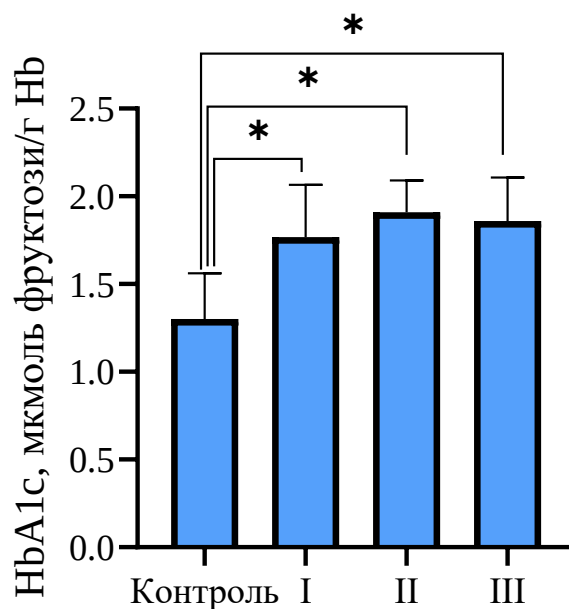


Рис. 3.5. Вміст глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) у крові щурів на 60 добу дослідження ( $M \pm m$ ,  $p < 0,05$  до групи інтактних тварин)

Таблиця 3.1

**Показники активності кислої і лужної фосфатаз у сироватці крові та індекс мінералізації кісткової тканини пародонта щурів в експериментальних групах (M±m)**

| Показники                   | Групи дослідження   |            |             |              |
|-----------------------------|---------------------|------------|-------------|--------------|
|                             | Контрольна<br>(n=6) | I<br>(n=8) | II<br>(n=8) | III<br>(n=8) |
| Лужна фосфатаза,<br>нкат/кг | 154,0±13,0          | 120,0±9,0* | 118,0±10,0* | 138,2±12,0   |
| Кисла фосфатаза,<br>нкат/кг | 2,0±0,2             | 2,3±0,1    | 2,5±0,2*    | 2,0±0,2      |
| Індекс мінералізації        | 77,0±8,2            | 52,2±6,3*  | 47,2±5,7*   | 69,1±7,0     |

Примітка. \* –  $p < 0,05$  порівняно з показниками контрольної групи.

При експериментальному генералізованому пародонтиті на тлі ЦД 2 у щурів першої та другої групи в порівнянні з контролем активність тартратрезистентної кислої фосфатази (TRAP) підвищувалася, тоді як кісткової лужної фосфатази (BAR) зменшувалася, при цьому індекс мінералізації знижувався ( $p > 0,05$ ).

Ми вважаємо, що в основі такого порушення метаболізму кісткової тканини лежить пригнічення функції остеобластів, на що вказує зниження активності кісткової лужної фосфатази (BAR), а також підвищення функції остеокластів, яке ілюструє збільшений вміст у сироватці крові тартратрезистентної кислої фосфатази (TRAP). Одночасно застосування у щурів третьої групи стронцію ранелату збільшує здатність кісткової тканини пародонта до мінералізації за рахунок зростання активності лужної фосфатази (див. табл. 3.1).

Найбільш показовим щодо процесів кісткового метаболізму в експериментальних тварин виявився індекс мінералізації, який є співвідношенням вмісту лужної та кислої фосфатаз, що підтверджується в роботах попередників [26]. Цей індекс достовірно зменшувався в експериментальних моделях пародонтиту на тлі ЦД 2 у тварин із першої та другої дослідних груп ( $p < 0,05$ ). Тоді як застосування

стронцію ранелату в щурів третьої групи дослідження сприяло його підвищенню до значень контрольної групи ( $p > 0,05$ ), що свідчило про відновлення процесів остеогенезу та пригнічення кісткової резорбції.

Таким чином, отримані дані візуального обстеження тканин пародонта та біохімічного аналізу маркерів кісткового метаболізму в експериментальних щурів дозволили нам зробити наступні висновки.

По-перше, при створенні експериментальної моделі генералізованого пародонтиту у щурів комплексне застосування нікотинамід, стрептозотоцину та пеніциламіну призводить до зростання вмісту глюкози в сироватці крові, а також спричинює появу запально-деструктивних явищ в тканинах пародонта, які, зокрема, характеризуються порушенням маркерів кісткового метаболізму. По-друге, застосування стронцію ранелату, сприяє нормалізації показників кісткового метаболізму в сироватці крові щурів.

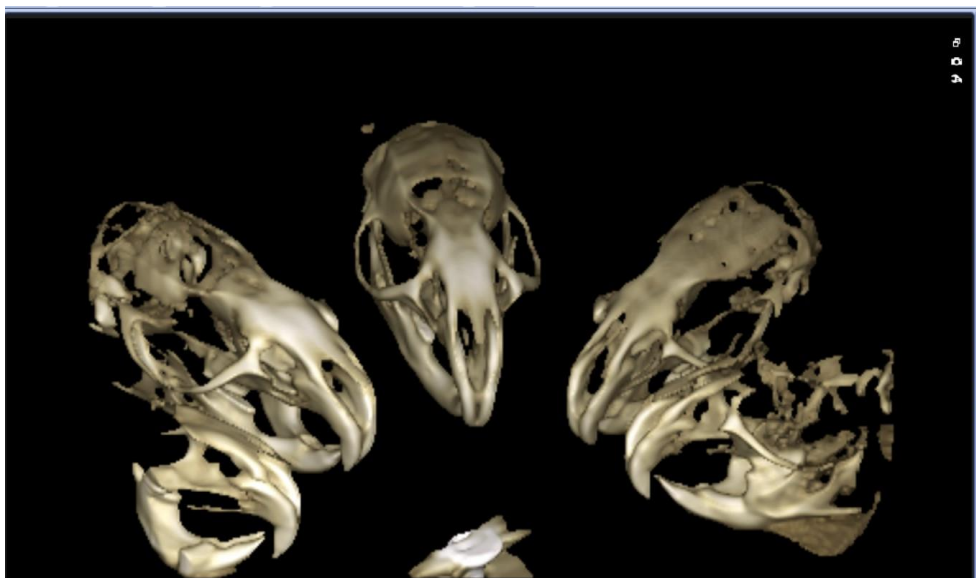
Подібні висновки підтверджуються приведеними надалі даними комп'ютерної томографії нижніх щелеп щурів (рис. 3.6).

За результатами комп'ютерної томографії було встановлено, що щури з дослідних груп мали явища остеопорозу в нижньощелепних кістках різного ступеня вираженості, що проявлялося зниженням мінеральної щільності кісткової тканини порівняно з контролем.

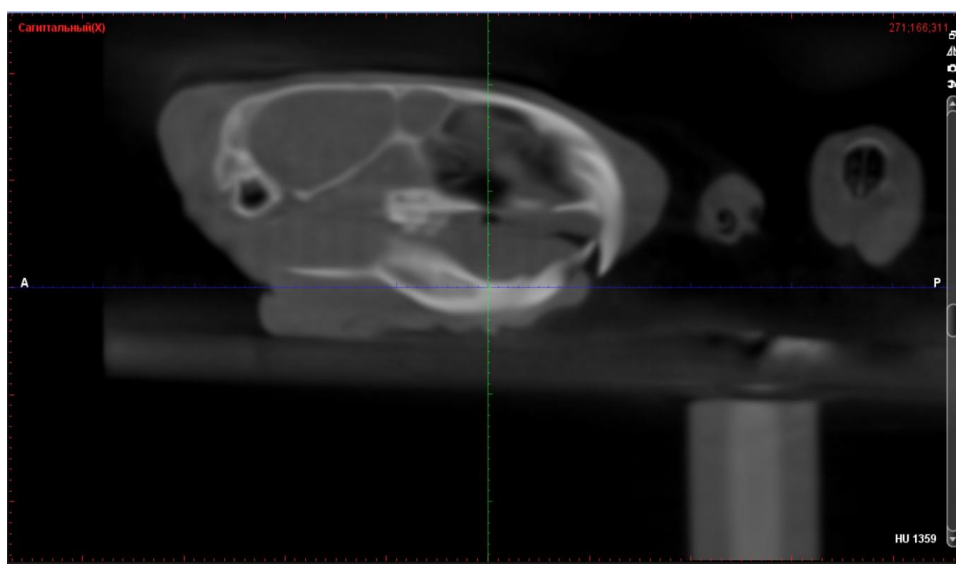
Комп'ютерні томограми нижніх щелеп щурів із різних дослідних груп представлені на рис. 3.7.

Відповідно, в контрольній групі середні значення показника мінеральної щільності BMD склали  $1450,0 \pm 125,0$  HU, в першій дослідній групі –  $1320,0 \pm 120,0$  HU ( $p > 0,05$ ), в другій –  $1100,0 \pm 110,0$  HU ( $p < 0,05$ ), в третій –  $1400,0 \pm 137,0$  HU ( $p > 0,05$ ).

Для візуалізації отриманих даних показники мінеральної щільності нижніх щелеп щурів із різних дослідних груп приведені на рис. 3.8.



а



б

Рис. 3.6. Результати комп'ютерної томографії: а – загальний вигляд, б – вимірювання мінеральної щільності кісткової тканини (BMD) в ділянці нижньої щелепи.

Таким чином, найбільш виражене зменшення мінеральної щільності нижньощелепної кістки спостерігалось при комплексному застосуванні нікотинаміду, стрептозотоцину та пеніциламіну, тоді як використання стронцію ранелату призводило до нормалізації показника BMD.

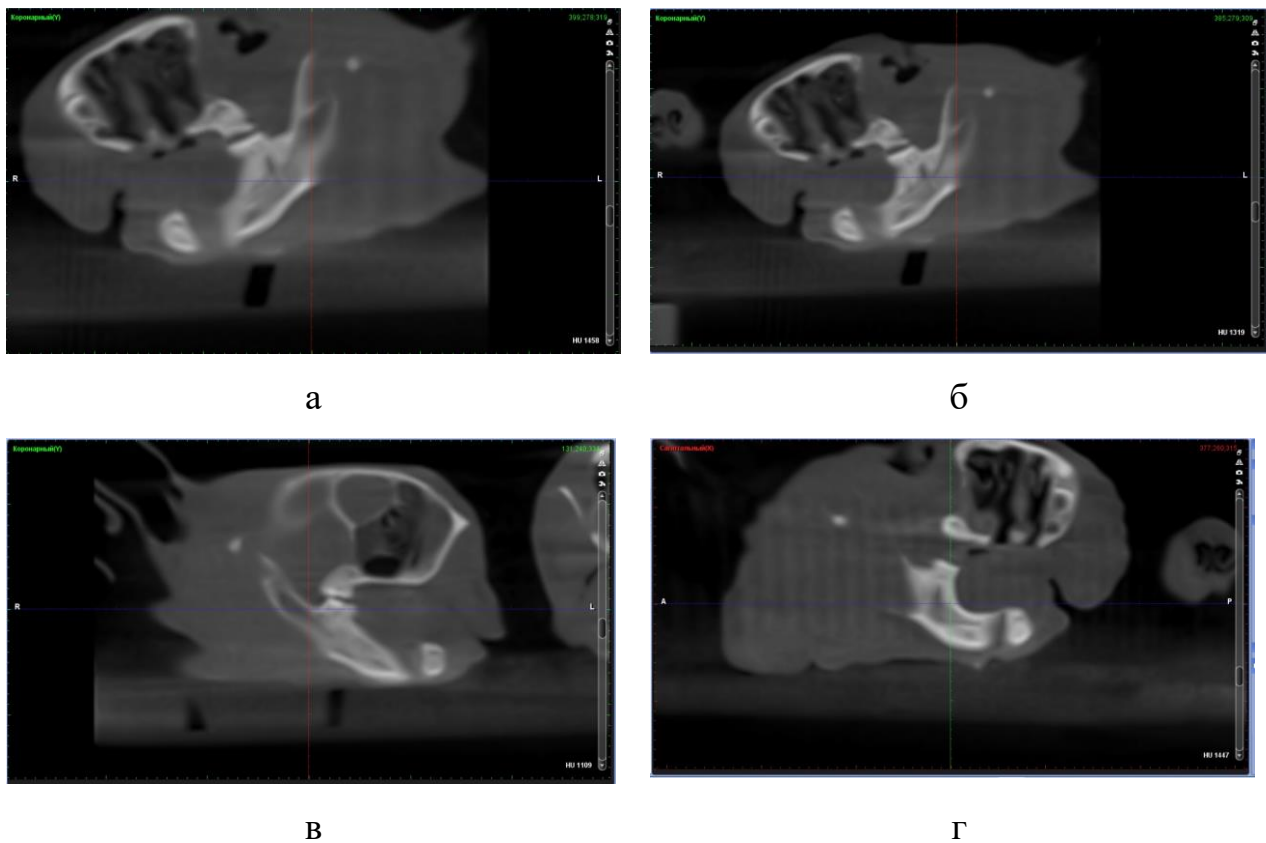


Рис. 3.7. Комп'ютерні томограми нижніх щелеп щурів із різних дослідних груп: а – контроль; б – перша; в – друга, г – третя

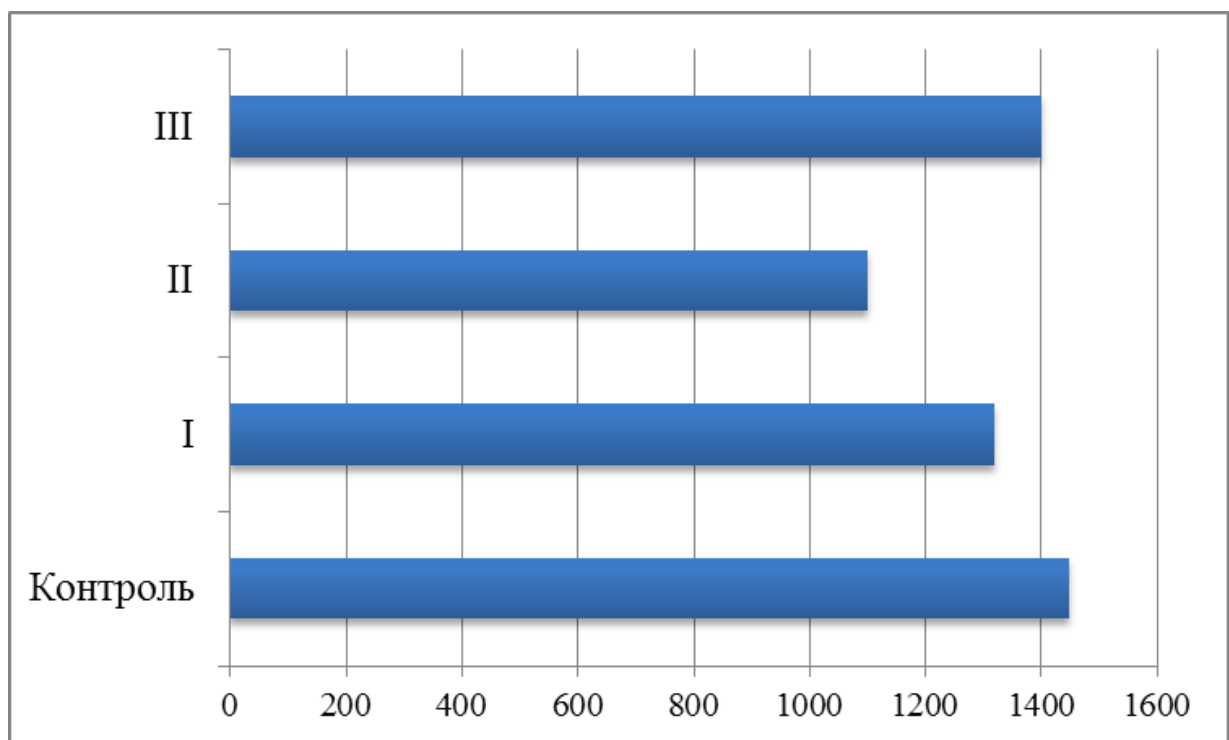


Рис. 3.8. Показники мінеральної щільності нижніх щелеп щурів із різних дослідних груп (HU,  $p > 0,05$ )

Згідно результатів атомно-емісійної спектрометрії в зразках альвеолярних частин нижньощелепних кісток щурів із дослідних груп встановлена наявність хімічних елементів кальцію, фосфору, натрію, магнію, калію, сірки, стронцію, цинку, заліза, барію, літію, хрому, марганцю, бору в кількостях, які підлягають вимірюванню.

Визначені показники вмісту зазначених хімічних елементів в зразках, отриманих в різних дослідних групах представлені в табл. 3.2 та 3.3.

Таблиця 3.2

**Вміст макроелементів у зразках альвеолярної частини нижньої щелепи щурів різних дослідних груп ( $M \pm m$ , г/кг)**

| Групи            | Макроелемент    |                 |                |               |               |               |
|------------------|-----------------|-----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|
|                  | кальцій         | фосфор          | натрій         | магній        | калій         | сірка         |
| Контроль (1)     | 220,0 $\pm$ 5,0 | 192,5 $\pm$ 3,8 | 9,9 $\pm$ 0,4  | 5,0 $\pm$ 0,2 | 4,1 $\pm$ 0,3 | 2,3 $\pm$ 0,1 |
| I (2)            | 197,1 $\pm$ 4,0 | 187,2 $\pm$ 3,0 | 10,7 $\pm$ 0,4 | 4,4 $\pm$ 0,2 | 3,7 $\pm$ 0,3 | 2,3 $\pm$ 0,1 |
| II (3)           | 190,2 $\pm$ 4,0 | 188,9 $\pm$ 3,0 | 10,3 $\pm$ 0,4 | 4,0 $\pm$ 0,2 | 3,3 $\pm$ 0,3 | 2,2 $\pm$ 0,1 |
| III (4)          | 233,7 $\pm$ 6,0 | 184,8 $\pm$ 3,0 | 10,6 $\pm$ 0,5 | 4,0 $\pm$ 0,2 | 3,4 $\pm$ 0,3 | 2,1 $\pm$ 0,1 |
| P <sub>1-2</sub> | <0,001          | >0,05           | >0,05          | <0,05         | >0,05         | >0,05         |
| P <sub>1-3</sub> | <0,001          | >0,05           | >0,05          | <0,001        | >0,05         | >0,05         |
| P <sub>1-4</sub> | >0,05           | >0,05           | >0,05          | <0,001        | >0,05         | >0,05         |

Примітка. Порівняння показників дослідних груп проводилося з показниками контрольної групи.

Загальновідомо, що співвідношення кальцій/фосфор є показником процесів мінералізації кісткової тканини. В контрольній групі воно дорівнювало 1,14, у першій групі – 1,05, у другій – 1,0 та в третій – 1,26. Таким чином, у першій та другій дослідних групах можна казати про посилення демінералізації внаслідок

виведення основних мінеральних елементів. Це також підтверджується зменшенням рівня магнію ( $p < 0,05$ ), який входить до складу основних ферментів кісткоутворення (фосфатаз).

Таблиця 3.3

**Вміст мікроелементів у зразках альвеолярної частини нижньої щелепи щурів різних дослідних груп ( $M \pm m$ , мг/кг)**

| Групи        | Мікроелемент       |                    |                   |                   |                  |                  |                  |                  |
|--------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|              | стронцій           | цинк               | залізо            | барій             | літій            | хром             | марганець        | бор              |
| Контроль (1) | 233,1<br>$\pm 4,8$ | 183,4<br>$\pm 3,8$ | 82,3<br>$\pm 1,5$ | 28,8<br>$\pm 1,0$ | 3,8<br>$\pm 0,2$ | 3,0<br>$\pm 0,3$ | 2,2<br>$\pm 0,1$ | 1,1<br>$\pm 0,1$ |
| I (2)        | 166,4<br>$\pm 3,5$ | 173,1<br>$\pm 3,2$ | 43,8<br>$\pm 1,3$ | 18,5<br>$\pm 0,8$ | 3,2<br>$\pm 0,2$ | 2,6<br>$\pm 0,1$ | 1,8<br>$\pm 0,1$ | 1,2<br>$\pm 0,1$ |
| II (3)       | 160,8<br>$\pm 3,5$ | 172,3<br>$\pm 3,5$ | 51,0<br>$\pm 1,2$ | 18,6<br>$\pm 0,8$ | 3,2<br>$\pm 0,2$ | 2,6<br>$\pm 0,1$ | 1,7<br>$\pm 0,1$ | 1,3<br>$\pm 0,1$ |
| III (4)      | 528,1<br>$\pm 9,2$ | 172,2<br>$\pm 3,5$ | 37,6<br>$\pm 1,2$ | 17,6<br>$\pm 0,8$ | 3,0<br>$\pm 0,2$ | 2,8<br>$\pm 0,2$ | 1,7<br>$\pm 0,1$ | 1,1<br>$\pm 0,1$ |
| $P_{1-2}$    | <0,001             | <0,05              | <0,001            | <0,001            | <0,05            | <0,05            | >0,05            | >0,05            |
| $P_{1-3}$    | <0,001             | <0,05              | <0,001            | <0,001            | <0,05            | <0,05            | >0,05            | >0,05            |
| $P_{1-4}$    | <0,001             | <0,05              | <0,001            | <0,001            | <0,05            | >0,05            | >0,05            | >0,05            |

Примітка. Порівняння показників дослідних груп проводилося з показниками контрольної групи.

Навпаки, в третій групі застосування стронцію ранелату спричинило зростання співвідношення кальцій/фосфор, що вказує на активацію ремінералізації кісткової тканини. Одночасно рівень магнію не відрізнявся для показників першої та другої дослідних груп, залишаючись достовірно меншим порівняно з контролем, що, на нашу думку, пояснюється лише початком остеорепаративного процесу. Зміни

вмісту макроелементів натрію, калію та сірки в дослідних групах виявилися недостовірними ( $p > 0,05$ ).

Зміни вмісту мікроелементів також виявилися показовими щодо характеру процесів, які відбувалися в кістковій тканині дослідних тварин внаслідок експерименту. Так, вміст стронцію в зразках третьої групи перевищував значення контролю майже в два рази ( $p < 0,001$ ) на фоні суттєвого зменшення його рівня в зразках першої та другої дослідних груп ( $p < 0,001$ ). Збільшення вмісту стронцію призводило до зменшення вмісту решти елементів, які вивчались, що пов'язано з конкурентним заміщенням у кристалах апатитів. Для порівняння: в першій та другій дослідних групах вміст стронцію був знижений порівняно з контролем ( $p < 0,001$ ), тоді як масова частка інших елементів (цинк, залізо, барій, літій) була більшою, ніж в третій групі ( $p < 0,05$ ). Хоча треба зауважити, що вміст усіх зазначених елементів в дослідних групах був менший порівняно з контролем, що вказує на зниження мінеральної щільності кісткової тканини в експериментальних моделях ( $p < 0,001$ ). Застосування стронцію ранелату сприяло підвищенню вмісту хрому порівняно з першою та другою дослідними групами, наближуючись за показниками до контролю ( $p > 0,05$ ). Малопоказовими щодо перебігу процесів мінералізації в експериментальних моделях виявилися марганець та бор ( $p > 0,05$ ).

Підсумовуючи результати комп'ютерної томографії та атомно-емісійної спектроскопії зразків нижньощелепних кісток щурів, нами, насамперед, доведена показовість застосованих експериментальних моделей щодо розвитку остеопоротичних змін при пародонтиті.

При цьому застосування лише стрептозотоцину та нікотинамідну, для моделювання ЦД 2, демонструє незначну резорбцію кісткової тканини за показниками мінеральної щільності. У свою чергу, введення пеніциламінну забезпечує посилення деструктивних явищ в альвеолярній кістці. Навпаки, застосування препаратів стронцію достовірно уповільнює процеси втрати мінеральної щільності кісткової тканини.

Хімічний склад кісткової тканини альвеолярних частин нижніх щелеп дослідних тварин виявився нестабільним та таким, що активно реагує на введення

медикаментозних препаратів. Значні коливання вмісту макро- та мікроелементів у зразках свідчать про лабільність обмінних процесів в кістковій тканині пародонта.

В експериментальних моделях пародонтиту спостерігається порушення співвідношення кальцій/фосфор, яке підтверджується зменшенням рівня магнію та стронцію при зростанні вмісту інших мікроелементів, що включаючись до структури апатитів, погіршують витривалість кісткової тканини.

Позитивний ефект застосування стронцію ранелату полягає у зростанні співвідношення кальцій/фосфор та збільшенні вмісту стронцію на тлі зменшення масової частки інших мікроелементів, що вказує на активацію ремінералізації кісткової складової пародонта.

Результати досліджень, наданих у цьому розділі, представлені в друкованих працях [31, 32].

## РОЗДІЛ 4

### ГІСТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ТКАНИН ПАРОДОНТА В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТА ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ СТРОНЦЮ РАНЕЛАТУ

Гістологічне дослідження тканин пародонта щурів із застосованих експериментальних моделей (див. підрозділ 2.1.2) включало в себе, в першу чергу, морфологічну оцінку стану кісткової тканини.

Як при моделюванні пародонтиту, так і при застосуванні ранелату стронцію, очікуваними були зміни мінеральної щільності кісткової тканини, важливими гістологічними показниками яких було співвідношення площі кісткової тканини (ПК) до загальної площі усіх тканин (ПТ) в ділянці першого нижнього моляру (ПК/ПТ).

Вочевидь, зміни даного морфометричного параметру були відбитком того морфофункціонального підґрунтя, яке складалось із активності остеобластів з одного боку та активності остеокластів з іншого. Проаналізувати стан ремоделювання кісткової тканини також дозволила якісна та кількісна оцінка експресії неколагенових білків кісткового матриксу (остеокальцину та остеопонтину).

Очікувані запально-деструктивні зміни в тканинах пародонта, що мали бути спровоковані застосуванням пеніциламіну, досліджувалися шляхом визначення наявності лейкоцитарної інфільтрації тканин та клітинного складу запального інфільтрату. Також зазначені порушення могли б реалізовуватися через зменшення площі кортикальної пластинки нижньощелепної кістки в ділянці альвеолярного відростка.

Отже, в представленому розділі представлені результати дослідження препаратів нижніх щелеп експериментальних щурів із застосуванням гістологічного, гістоморфометричного та імуногістохімічного методів.

#### 4.1. Результати гістологічного дослідження структури кісткової тканини нижньої щелепи щурів різних дослідних груп

Загальна гістологічна структура кісткової тканини нижньої щелепи щурів контрольної групи відзначалася типовими ознаками кісток лицьової частини черепа (щільний зовнішній шар компактної кістки та внутрішня, губчаста частина) (рис. 4.1).

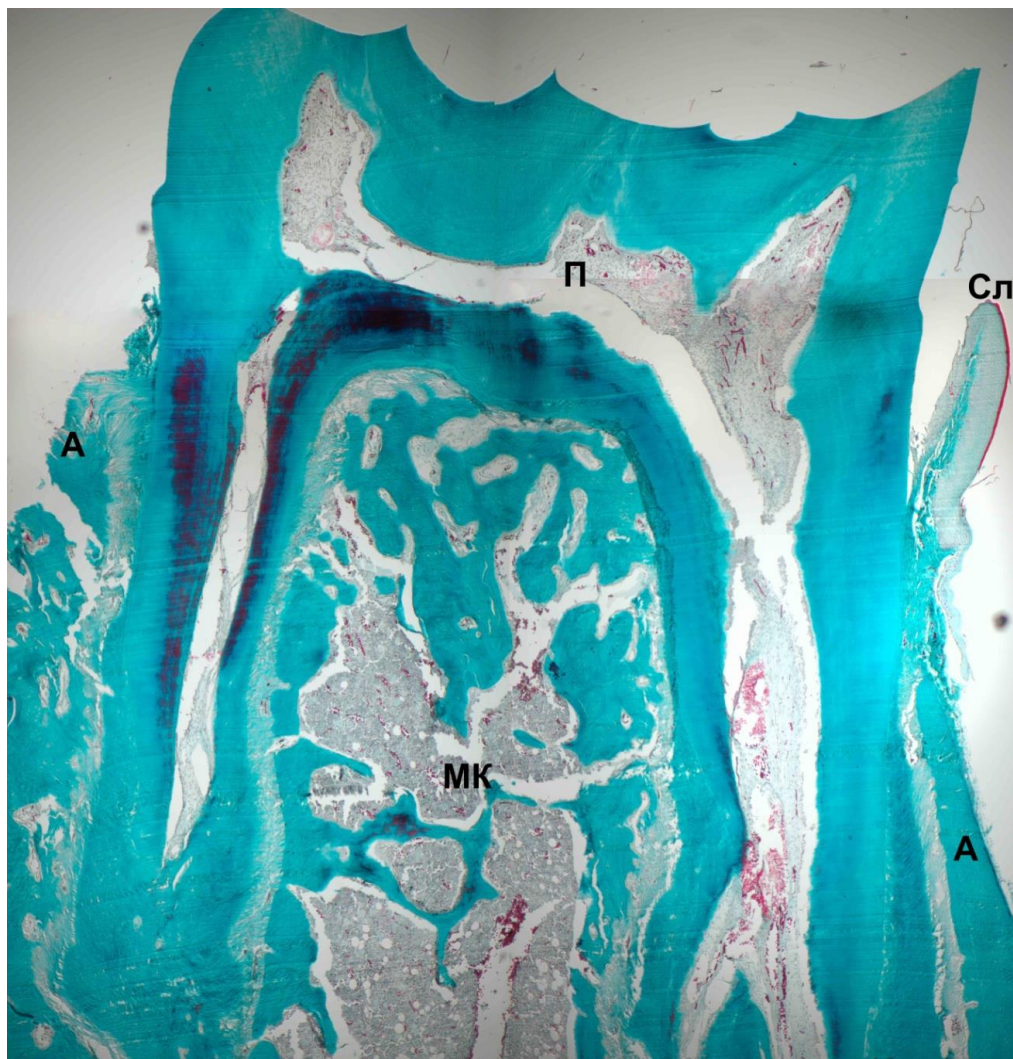


Рис. 4.1. Оглядова фотографія тканини зуба (перший нижній моляр) та навколишньої кісткової тканини (друга група дослідження):

П – пульпа зуба, Сл – слизова оболонка ясен, А – альвеолярна кістка, МК – міжкоренева кісткова перегородка. Склеювання 4 фото. Збільшення×50. Забарвлення трихромом за Масон-Голднером

Як видно з рисунка, губчаста частина сформована мережею кісткових трабекул (трабекулярна або губчаста кістка), у проміжках між якими розташований червоний кістковий мозок.

Як відомо, компактна і трабекулярна кістка поводяться по-різному і мають різні метаболічні реакції. При гістологічному дослідженні зовнішній шар компактної кістки та внутрішня опорна мережа трабекулярної кістки чітко розрізнялись. Проте варіанти зрілої кісткової тканини, як компактної так і трабекулярної, мали спільні гістологічні риси, які полягали в тому, що обидві склалися з мікроскопічних шарів мінералізованого матриксу або пластинок.

На отриманих мікропрепаратах розрізнялися три види кісткових пластинок: кортикальні, концентричні та інтерстиціальні. Кортикальна пластинка визначалась уздовж всієї поверхні щелепної кістки, утворюючи її зовнішній периметр.

Концентричні пластинки складали основну частину компактної кістки альвеолярних відростків з утворенням остеонів (гаверсової системи). У центрі кожного остеону розташовувався гаверсів канал, який був вистланий одним шаром остеобластів; у кожному каналі розміщувався гемокапіляр. В свою чергу, суміжні гаверсові канали були з'єднані між собою каналами Фолькмана. Останні також містили судини, таким чином створюючи судинну мережу компактної кістки. Інтерстиційні пластинки розташовувалися поміж сусідніми концентричними і заповнювали проміжки між ними.

Назовні кісткової тканини нижньої щелепи визначалася фіброзна сполучна тканина – окістя, в якому розрізняли два шари. Зовнішній (волокнистий) шар окістя складався з щільної, грубоволокнистої сполучної тканини. Внутрішній шар, який безпосередньо прилягав до кісткової поверхні, вміщував у себе остеобласти, інші тканини мезенхімального походження та капілярне сплетіння.

При порівнянні будови кортикальної пластинки нижньої щелепи тварин першої, третьої та контрольної груп жодних суттєвих відмінностей в кістковій структурі не виявлено. Натомість у тварин другої групи спостерігалися нерівномірні ділянки потовщення кортикального шару, що були особливо помітні в ділянках альвеолярної кістки з ознаками хронічного періодонтиту та наявністю дифузного

лімфоцитарного інфільтрату. У періодонтальній зв'язці колагенові волокна були базофільними та потовщеними. Спостерігались явища дегенерації, фокального некрозу та розриву. Прогресування процесу також описувалося базофільністю кісткових пластинок (рис. 4.2).

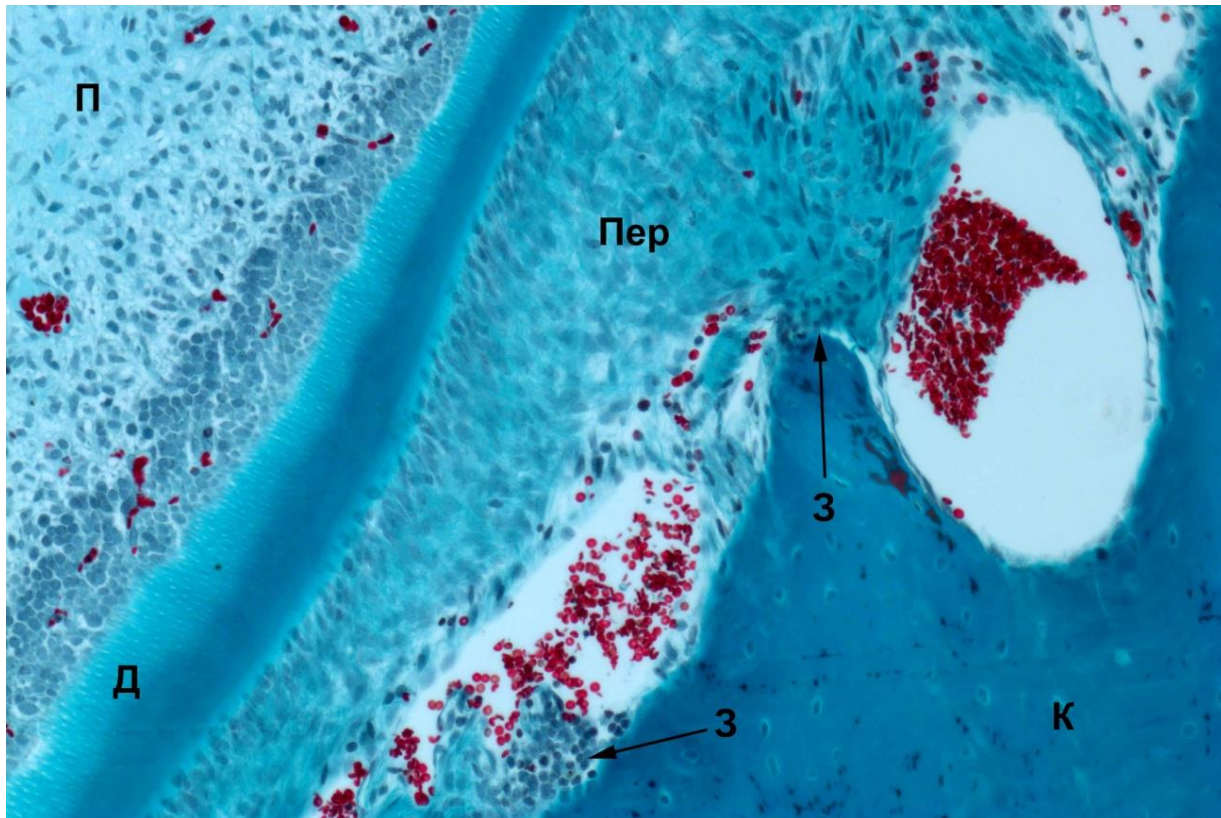


Рис. 4.2. Кісткова тканина (К) альвеолярного відростка в ділянці першого нижнього моляру та прилеглі до нього дентин (Д) з пульпою (П) (друга група дослідження). У періодонтальній зв'язці (Пер) спостерігається хронічне запалення (З), гемокапіляри значно розширені. Збільшення  $\times 200$ . Забарвлення трихромом за Масон-Голднером

Подібна гістологічна картина, а саме первинне ушкодження кісткової тканини в ділянках, що межують із зонами запалення в періодонтальній зв'язці, свідчить про те, що саме запальний процес у м'яких тканинах провокує зміни в альвеолярній кістці.

#### 4.2. Результати вивчення питомої щільності кісткової тканини та активності остеокластів і остеобластів

За нашими спостереженнями кісткові трабекули утворювалися вздовж однієї поверхні остеобластами, а вздовж іншої розсмоктувались остеокластами (рис. 4.3).

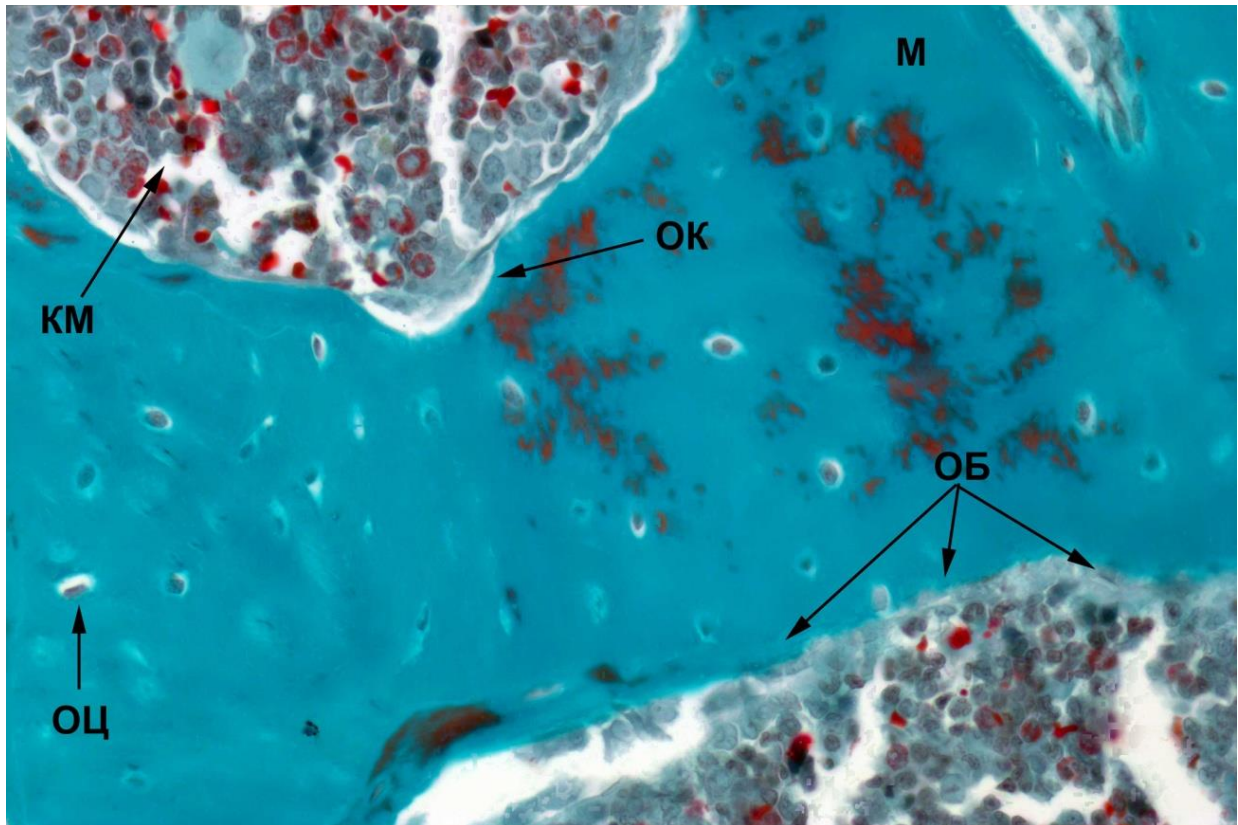


Рис. 4.3. Будова трабекулярної кістки. Міжкоренева перегородка першого нижнього моляра тварин контрольної групи. Кісткова трабекула складається з мінералізованого колагенового матриксу (М) зеленого забарвлення та декількох клітинних популяцій: остеобластів (ОБ), остеоцитів (ОЦ), остеокластів (ОК). Кісткові лакуни заповнені червоним кістковим мозком (КМ). Збільшення  $\times 400$ . Забарвлення трихромом за Масон-Голднером

Як було зазначено у підрозділі 2.1.5, для морфометричної характеристики залежності об'єму кісткової тканини від особливостей проведення експерименту була обрана трабекулярна кістка міжкореневої перетинки першого моляру нижньої щелепи щура.

На рис. 4.4 показано, що питома площа міжкореневої трабекулярної кістки варіювала між тваринами різних груп дослідження.

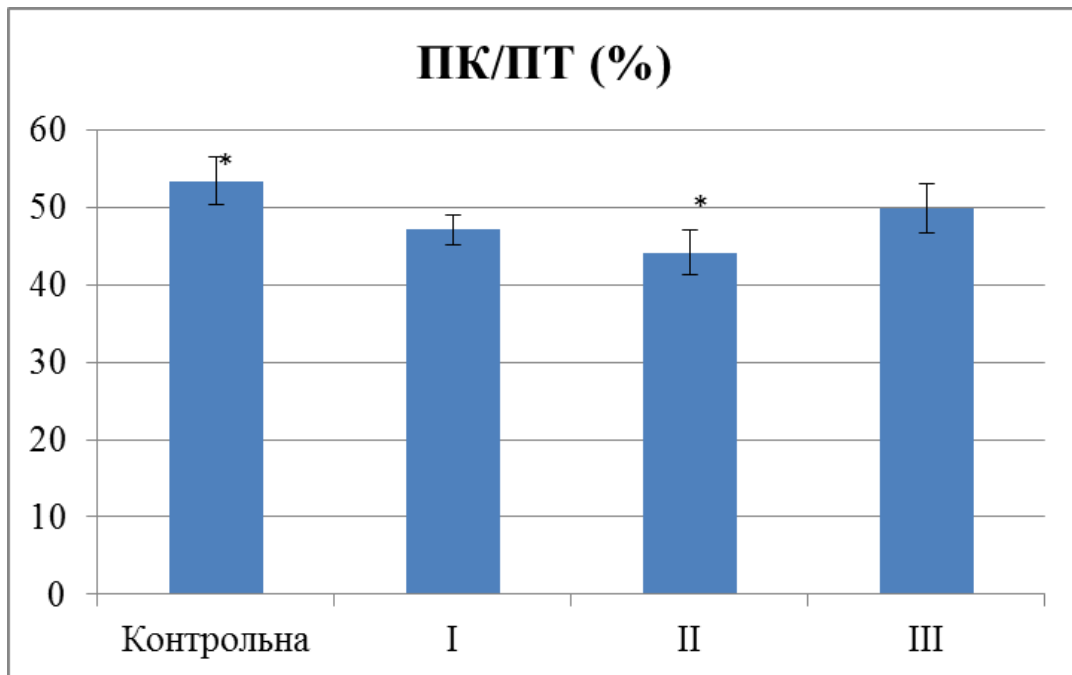


Рис. 4.4. Порівняння питомої площі кісткової тканини (ПК/ПТ) міжкореневих перегородок у ділянці першого моляра нижньої щелепи щурів із різних груп дослідження. Зірочкою позначені параметри із статистично достовірною різницею ( $p < 0,05$ )

Специфічні ділянки міжкореневої трабекулярної кістки були різними у тварин різних дослідних груп.

Так, у контрольній групі середнє значення ПК/ПТ міжкореневих перегородок у ділянці першого моляра становив  $53,4 \pm 3,1\%$ . У першій групі цей показник дорівнював  $47,1 \pm 1,9\%$ . У другій групі явища остеопорозу були найбільш вираженими (ПК/ПТ –  $44,2 \pm 2,9\%$ ), тоді як у третій групі середній показник питомої площі міжкореневої кісткової тканини практично не відрізнявся від значень контрольної групи ( $49,0 \pm 3,2\%$ ). Проте статистично значущі відмінності спостерігалися лише між контрольною та другою експериментальними групами ( $p < 0,05$ ).

Поодинокі остеокласти та групи остеокластів розміщувалися на поверхні кісткових трабекул та у заглибленнях – лакунах Гоусіпа (див. рис. 4.3, рис. 4.5).

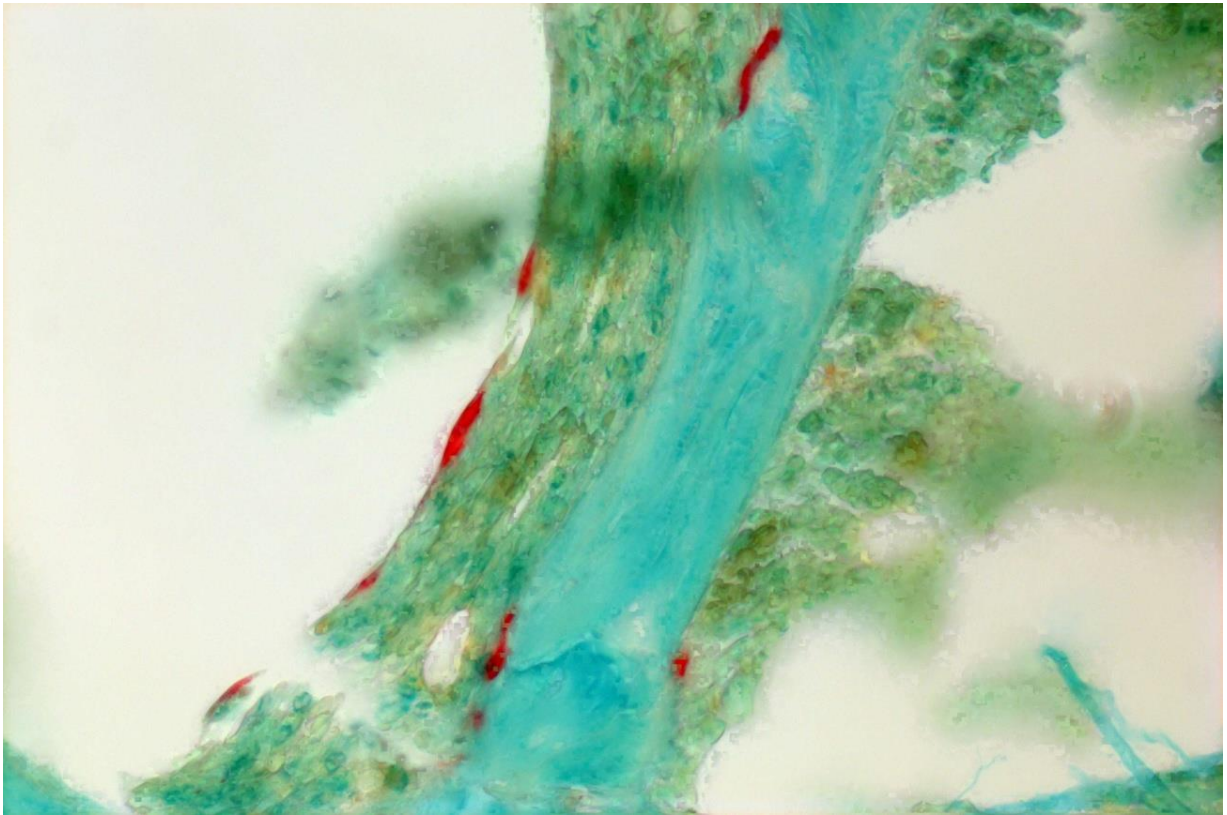


Рис. 4.5. TRAP-позитивні клітини, остеокласти (малинового кольору), розташовані групами вздовж кісткової трабекули. Міжкоренева кісткова перегородка в ділянці першого нижнього моляра в зразках другої групи дослідження. Збільшення  $\times 400$ . Гістохімічне забарвлення на TRAP. Фоновий барвник – міцний зелений

Остеокласти визначалися на препаратах як великі багатоядерні клітини, які найчастіше розташовувалися групами у місцях, де відбувалася кісткова резорбція. У порівнянні з усіма іншими кістковими клітинами та їх попередниками багатоклітинні остеокласти мали більші розміри, тому вони легко ідентифікувалися під світловим мікроскопом. Остеокласти інколи утворювали скупчення. Окрім звичайної гістології, остеокласти визначалися гістохімічно, завдяки наявності

тарtrat-резистентної кислої фосфатази (TRAP) у своїх цитоплазматичних везикулах та вакуолях.

Відомо, що остеокласти утворюються з гемопоетичних стовбурових клітин або клітин-попередників, а їх основна функція полягає у резорбції кісткової тканини [177]. При цьому ініціюють проліферацію попередників остеокластів і сприяють їх диференціюванню в зрілі остеокласти остеобласти за рахунок секреції макрофагального колонієстимулюючого фактору (MCSF). MCSF не тільки зменшує апоптоз остеокластів і подовжує клітинний цикл, але також сприяє проліферації, диференціації та дозріванню остеокластів. В свою чергу, ядерний фактор транскрипції (NF- $\kappa$ B) рецептор необхідний для утворення остеокластів і регулюється шляхом зворотного зв'язку остеопротегерину (OPG). Ще один фактор, який регулює кісткові клітини, це – активатор рецепторів ядерного фактору  $\beta$  ліганд (RANKL). RANKL в основному експресується в остеобластах, фібробластах і активованих Т- або В-лімфоцитах, або секретується в позаклітинні клітини матриці. RANK на поверхні клітин преостеокласта розпізнає і зв'язується з RANKL, що призводить до їх диференціювання в зрілі остеокласти [112].

Звідси, поруч з остеокластами спостерігались одноядерні клітини; деякі з яких диференціювалися в остеобласти, утворюючи нову кістку на резорбованій поверхні.

Зазначимо, що у всіх групах виявлено відносно невеликий вміст остеокластів (не більше 3 клітин на  $\text{мм}^2$ ). Так, у контрольній групі цей показник становив  $2,24 \pm 1,41$  клітин на  $\text{мм}^2$ , у першій групі –  $4,34 \pm 1,37$  клітин на  $\text{мм}^2$ , у другій –  $2,96 \pm 1,26$  клітин на  $\text{мм}^2$  і в третій –  $2,24 \pm 1,41$  клітини на  $\text{мм}^2$  (рис. 4.6). Тим не менш, жодної статистично достовірної різниці між оцінюваними за цим параметром групами виявлено не було ( $p > 0,05$ ).

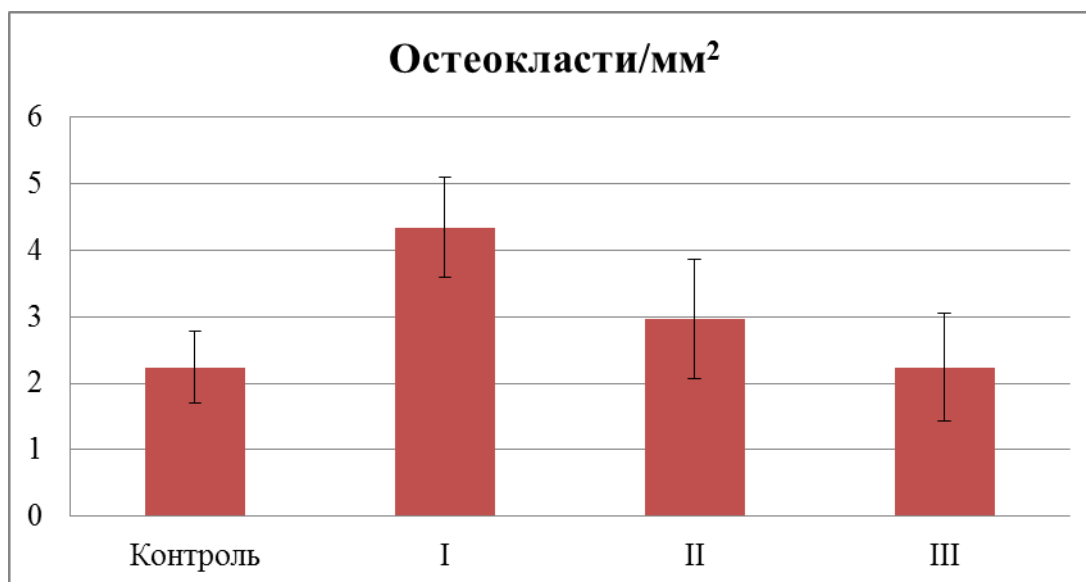


Рис. 4.6. Порівняння кількості остеокластів на мм<sup>2</sup> трабекулярної кісткової тканини міжкореневої перегородки першого моляра нижньої щелепи у щурів з дослідних груп ( $p > 0,05$ )

Слід зазначити, що збільшення кількості остеокластів в першій та другій дослідних групах супроводжувалося зменшенням питомої площі трабекулярної кістки в ділянці першого моляра нижньої щелепи (рис. 4.7). У контрольній групі співвідношення ПК/ПТ трабекулярної кістки дорівнювало  $52,8 \pm 3,1$  %, у першій групі –  $46,6 \pm 1,6$  %, у другій групі –  $43,6 \pm 2,9$  % і в третій групі –  $50,7 \pm 2,5$  %. Статистично достовірної різниці між показниками ПК/ПТ трабекулярної кістки у щурів різних дослідних груп виявлено не було ( $p > 0,05$ ).

Доцільно брати до уваги той факт, що остеобласти утворюються з мезенхімальних стовбурових клітин та беруть участь у формуванні кісткової тканини. Клітини секретують колаген I типу, органічну основу кісткової тканини, що мінералізується за допомогою лужної фосфатази, остеокальцину та остеопонтину, які сприяють утворенню кристалів гідроксиапатиту [320]. Таким чином, експресія лужної фосфатази, остеокальцину та остеопонтину регулюється під час остеогенезу, і тому саме їх показники вважаються маркерами диференціації та дозрівання остеобластів [241].

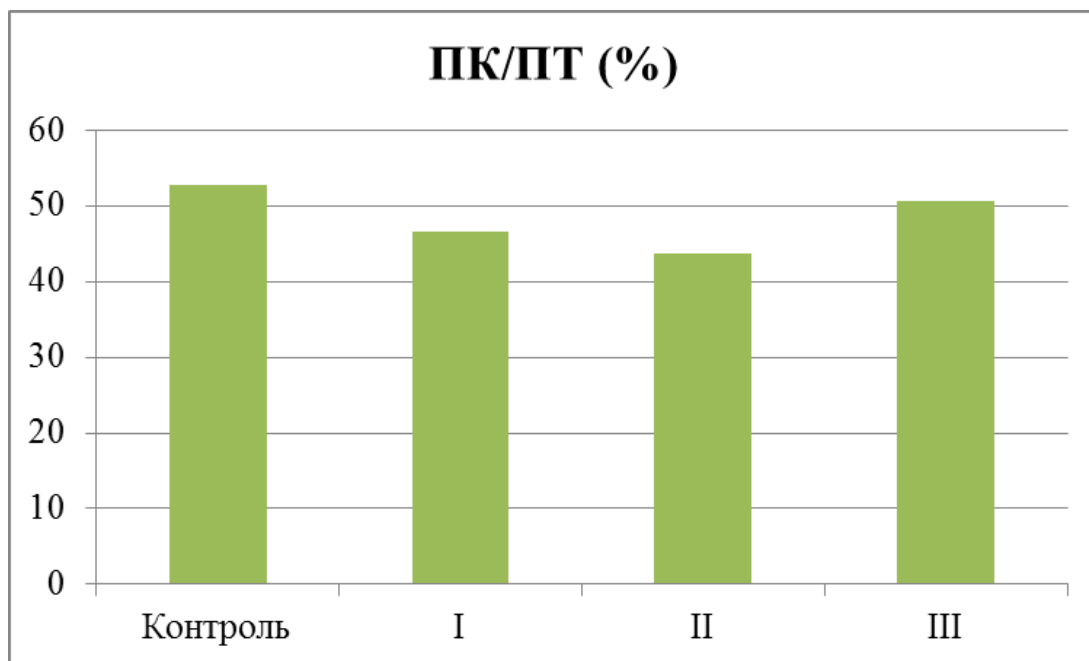


Рис. 4.7. Порівняння питомої площі кісткової тканини (ПК/ПТ) трабекулярної кістки в ділянці першого моляра нижньої щелепи щурів різних груп дослідження ( $p > 0,05$ )

Тоді як при ЦД 2 спостерігається значне зниження рівня лужної фосфатази, остеокальцину та остеопонтину [196].

На гістологічних препаратах, отриманих в нашому дослідженні, остеобласти відзначались як одноядерні кубоподібні клітини, що зазвичай прилягали одна до одної, з дещо ексцентрично розташованими ядрами і світлою цитоплазмою, які розташовувалися над остеїдом. Власне цей органічний матрикс кісткової тканини вони і синтезували. В усіх групах тварин спостерігались як активовані остеобласти, які виглядали як огрядні, кубоподібні клітини, так і остеобласти в стані спокою – злегка сплюснені клітини, які в першу чергу відповідали за вироблення органічної матриці кістки.

Остеобласти утворювали клітинний шар над кістковою поверхнею, що формувалася наново. На більшості поверхонь кісткових трабекул спостерігалися клітини кісткової оболонки або вистилаючі клітини, які утворювалися з остеобластів шляхом істотного сплюснення та поширення вздовж поверхні кістки, коли процес утворення кістки припинився (див. рис. 4.2, рис. 4.8).

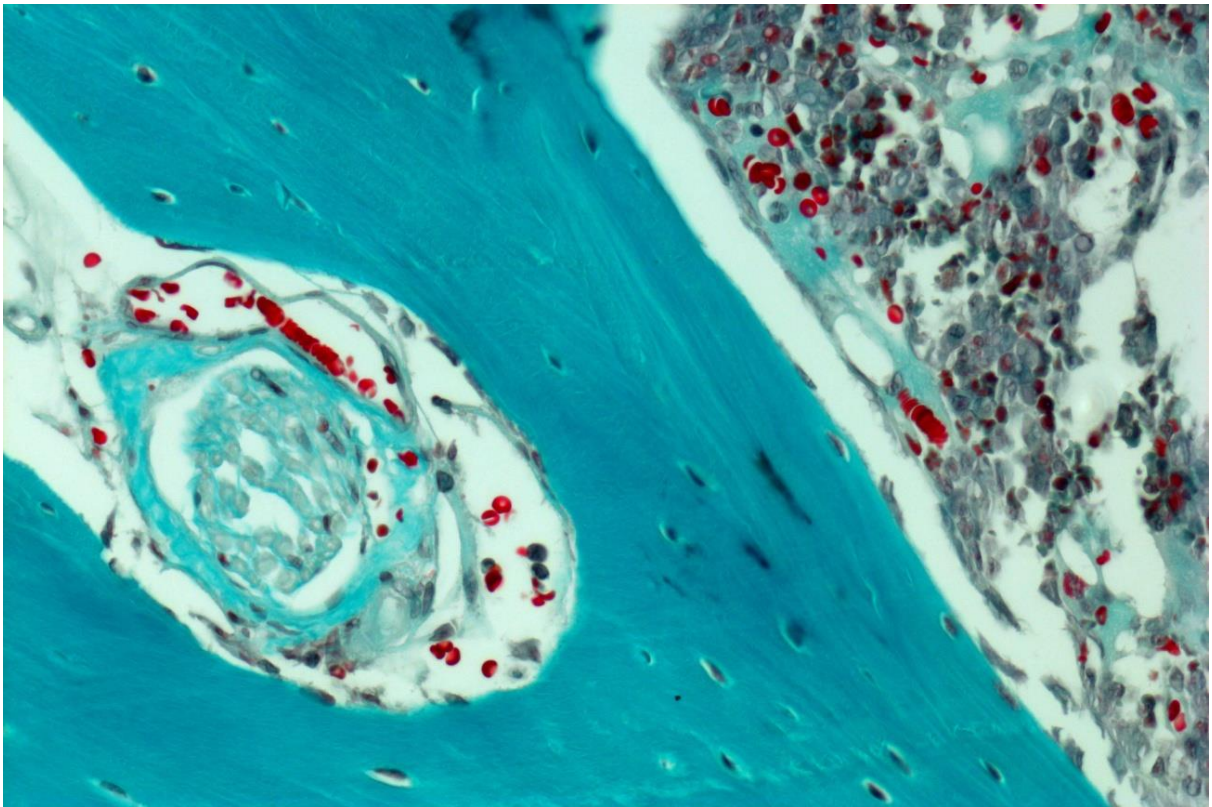


Рис. 4.8. Фрагмент трабекулярної кістки. Міжкоренева перегородка першого нижнього моляра (перша дослідна група). Кісткова тканина стабільна: остеобласти розташовані вздовж трабекул, мають сплюснений вигляд. Збільшення  $\times 200$ . Забарвлення трихромом за Масон-Голднером

Серед достовірних відмінностей досліджуваних груп встановлено збільшення кількості активних остеобластів у третій групі. Процеси резорбції для цієї групи можна характеризувати як практично завершені ремодуляцією кісткових пластин. Ознаки запалення були мінімальними. При цьому активні остеобласти утворювали остеїд, деякі з них були замуrowані в кістковий матрикс, який ними ж був вироблений, як мінералізований так і не мінералізований. Ці клітини ми верифікували як остеоцити. Кількість остеобластів, які стають остеоцитами, змінюється залежно від швидкості утворення кісток; чим швидше утворення, тим більше остеоцитів припадає на одиницю об'єму. Як відомо, ембріональна волокниста кістка та кістка, що регенерує, має більше остеоцитів, ніж пластинчаста кістка.

Саме таке збільшення кількості остеоцитів у компактній кортикальній кістці спостерігалось у другій дослідній групі, що супроводжувалося потовщенням кортикального шару у відповідь на місцеве запалення.

Тим не менш, як найбільш об'єктивний показник активності остеобластів у представленій дисертаційній роботі слід розглядати імуногістохімічне дослідження експресії остеопонтину та остеокальцину в кістковому матриксі.

#### **4.3. Імуногістохімічне дослідження експресії остеопонтину та остеокальцину**

Відомо, що до складу секреторних продуктів остеобластів відноситься колаген I типу, домінуючий компонент органічної матриці; невелика кількість інших колагенів, включаючи тип V і тип XII; протеоглікани; і деякі неколагенові білки. Молекули колагену I типу утворюються і збираються позаклітинно у вигляді фібрил і накопичуються у вигляді шару немінералізованої субстанції, як у фібробластів, так і одонтобластів. Цей шар власне і є остеїд (передкістка).

Неколагенові білки, що включаються до складу остеїду, звільнюються переважно вздовж поверхні остеобластів. Вони дифундують від поверхні остеобластів до ділянок мінералізації, де вони беруть участь у регулюванні осадження гідроксиапатиту.

Поблизу фронту мінералізації в межах остеїду можна помітити вогнища мінералізації, де накопичуються певні неколагенові білки, такі як остеопонтин.

Як видно з рис. 4.9 в нашому дослідженні остеопонтин не розподілявся рівномірно по всій кальцифікованій кістковій матриці.

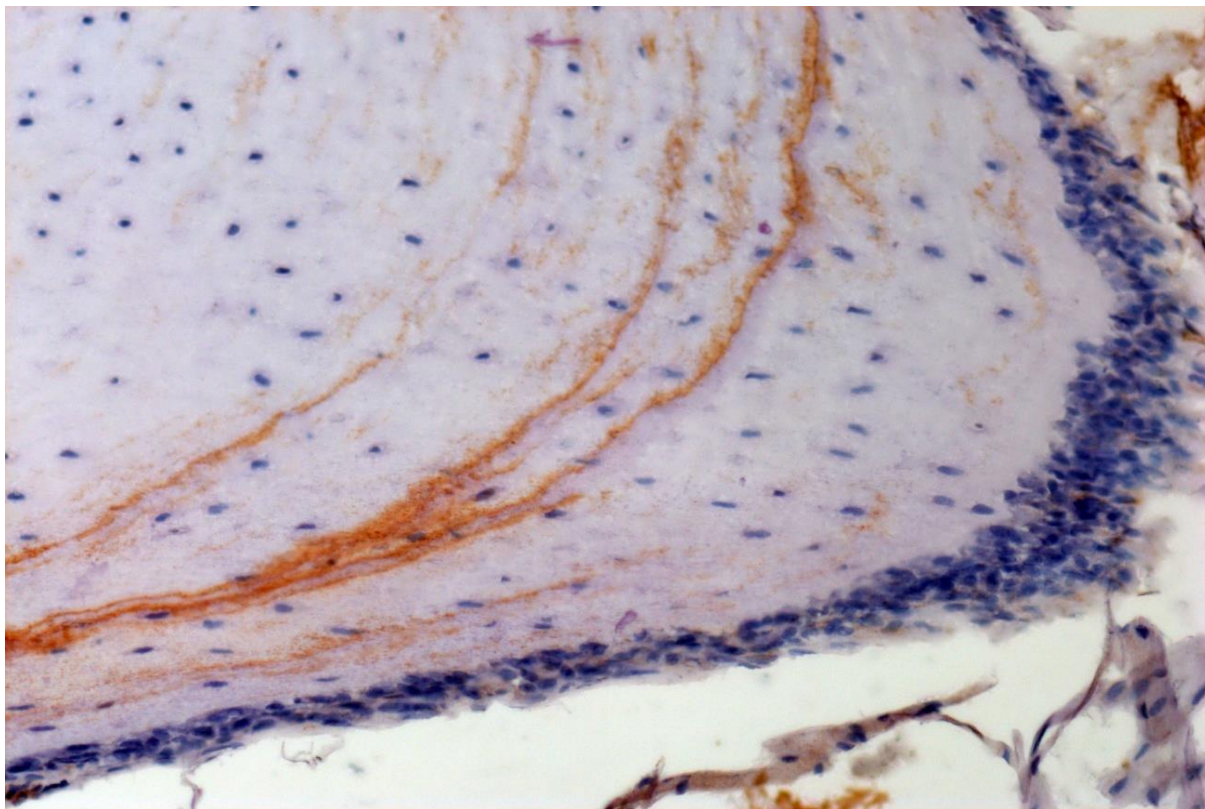


Рис. 4.9. Компактна кістка альвеолярного відростка в ділянці першого моляра нижньої щелепи щура. Рівномірна експресія остеопонтину відбувається вздовж ліній мінералізації. Контрольна група. Імунопероксидазний метод. Збільшення  $\times 200$

Тоді як місця, де зазвичай зосереджений остеопонтин, знаходилися в цементних лініях на межі між старою та новою кісткою.

За результатами імуногістохімічного дослідження експресії остеопонтину та його розподілу в зразках кісткової тканини нижньої щелепи між дослідними групами встановлено, що у зразках першої та контрольної груп спостерігалася подібна ситуація: знижена експресія остеопонтину в кістковій тканині альвеолярного відростка та його активне виділення в міжзубних перегородках (рис. 4.10).

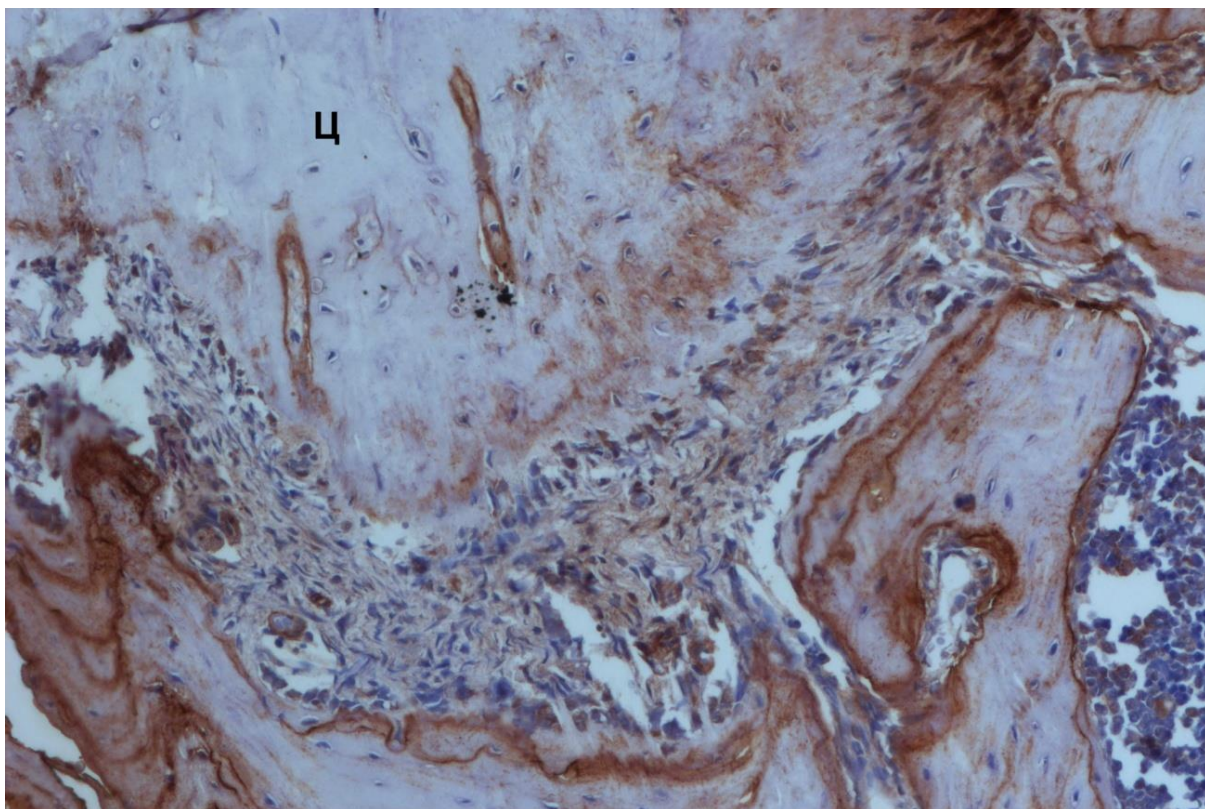


Рис. 4.10. Компактна кістка альвеолярного відростка в ділянці першого моляра нижньої щелепи щура. Активна експресія остеопонтину відбувається в зоні інтенсивного остеогенезу. Експресія остеопонтину спостерігається в прикореневому цементі (Ц). Перша група дослідження. Імунопероксидазний метод. Збільшення  $\times 200$

В свою чергу, в другій дослідній групі спостерігалось виникнення нерівномірних вогнищ експресії остеопонтину в компактній кістковій тканині альвеолярного відростка нижньої щелепи, які відповідали ділянкам її потовщення, розташованим поблизу зон хронічного запалення вперіодонтальній зв'язці (рис. 4.11).

Подібні спостереження чітко ілюструють зміни, що відбувалися в кістковій тканині у відповідь на запальний процес, мається на увазі інтенсивне ремоделювання, тому що з одного боку мали місце процеси резорбції трабекулярної кістки, з іншого відбувалось утворення нової волокнистої кісткової тканини навколо періодонтальної зв'язки.

Зразки третьої групи щурів, де використовували стронцію ранелат, мали найбільш виразні прояви остеогенезу і, водночас, демонстрували найбільш інтенсивну експресію остеопонтину, як у трабекулярній, так і в компактній кістковій тканині. На відміну від другої групи, за інтенсивністю експресії це підвищення мало більш рівномірний характер.

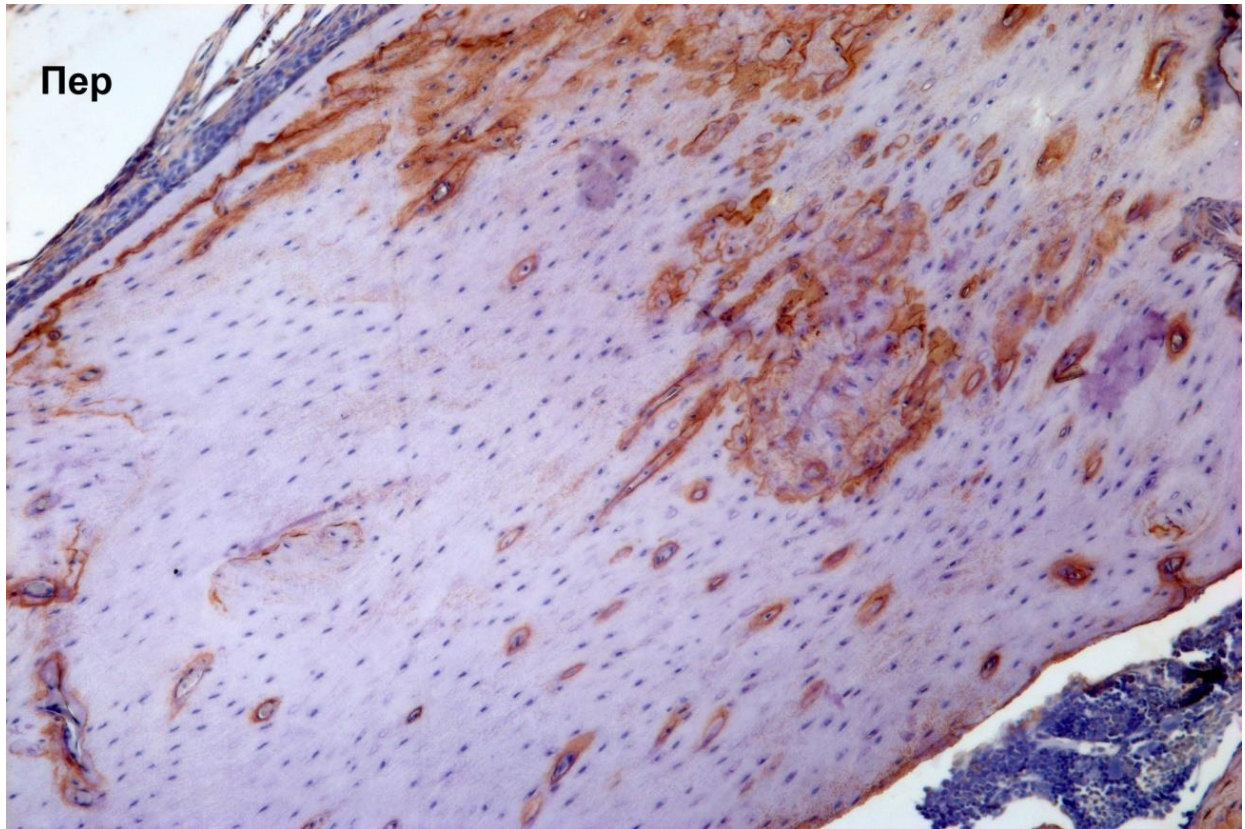


Рис. 4.11. Компактна кістка альвеолярного відростка в ділянці першого моляра нижньої щелепи щура. Виражена і нерівномірна експресія остеопонтину в зонах мінералізації кісток. Друга група дослідження. Пер-періодонтальна зв'язка. Імунопероксидазний метод. Збільшення  $\times 100$

Остеопонтин розподілявся майже паралельно вздовж кісткових пластинок. Як і в решті груп, остеопонтин активно експресувався в міжкорневих перегородках та у дентині (рис. 4.12).

Як видно з рис. 4.13, зона мінералізації дентину (переддентин) також характеризувалися підвищеною експресією остеокальцину.

Емалевий орган був повністю дозрілий, шар амелобластів із сосочковим шаром утворювали єдиний епітелій емалі. Поверхневі амелобласти були зменшені у розмірах і мали вигляд сплющеного епітелію. Основними організаційними одиницями емалі були емалеві призми та міжпризматична речовина.

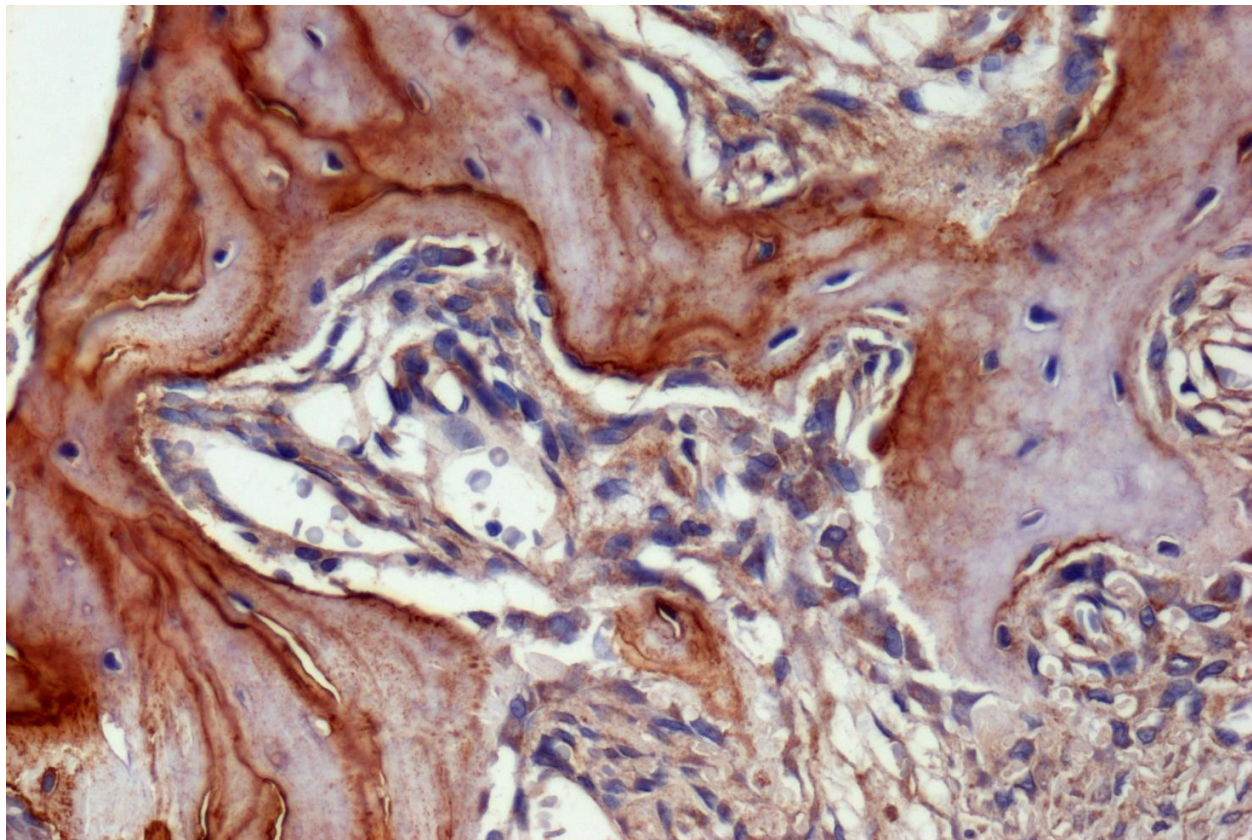


Рис. 4.12. Трабекулярна кісткова тканина міжкореневої перегородки першого моляра нижньої щелепи щура. Третя дослідна група. Виразна рівномірна експресія остеопонтину відбувається в зонах мінералізації кісткової тканини. Імунопероксидазний метод. Збільшення  $\times 400$

Біля поверхні зубів знаходилися структуровані призми, а в їх глибшій частині спостерігалися відростки Томса, що проникали в емаль. У глибших ділянках, поблизу дентину, матрикс більш зрілий і частково відсутній.

У щурів епітеліальна коренева піхва Гертвіга була все ще присутня під час кальцифікації кореневого дентину. В свою чергу, на мінералізованому дентині починалось утворення клітинного цементу, часто за наявності клітин з епітеліальними характеристиками. На межі дентину і пульпи зуба спостерігався

переддентин, який був утворений за рахунок немінералізованих колагенових волокон та інтерстиційної речовини, які розташовані поміж кристалічних гранул мінералізованого дентину (див. рис. 4.13).

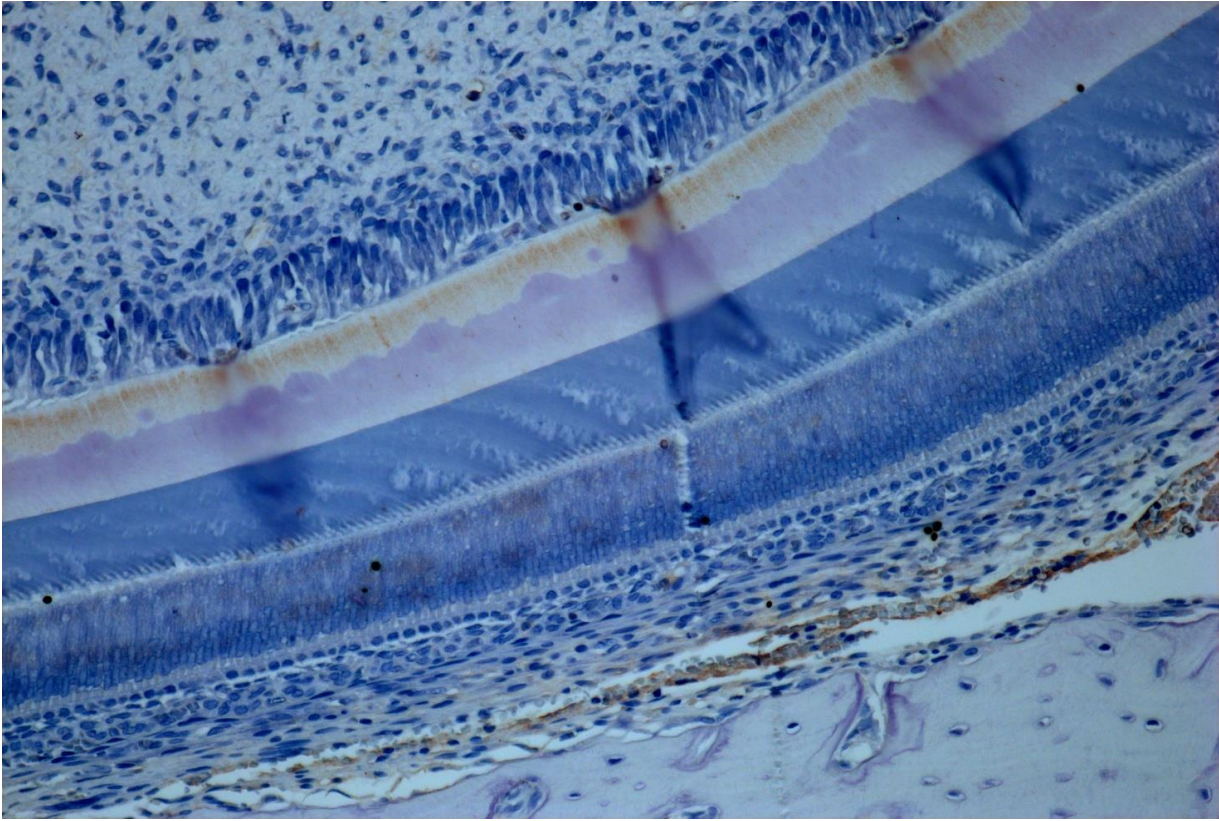


Рис. 4.13. Фрагмент тканини зуба з пульпою, одонтобластами, дентином, та трьома шарами емалевого органу. Забарвлення на остеокальцин, який добре візуалізується у зоні мінералізації дентину - переддентині. Імунопероксидазний метод. Збільшення  $\times 200$ .

Цемент був розташований упритул до кореневого дентину. Епітеліальні острівці Маляссе (залишки кореневої оболонки) також спостерігалися в тканині періодонту (рис. 4.14).

Слід зазначити, що жодних достовірних відмінностей між дослідними групами при проведенні імуногістохімічних досліджень не встановлено.

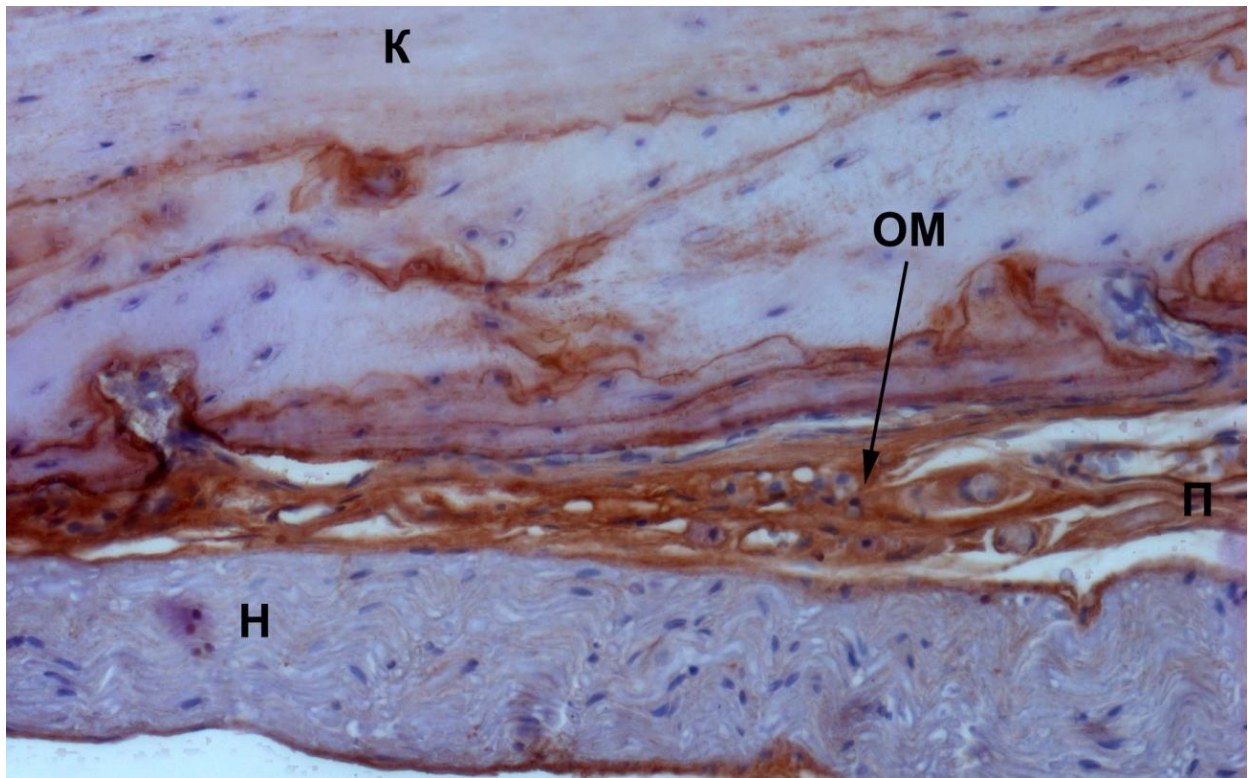


Рис. 4.14. Компактна кістка (К) поблизу прикореневого періодонту (П), в якому візуалізуються острівці Маляссе (ОМ) та нервовий стовбур (Н). Третя дослідна група. Виразна рівномірна експресія остеопонтину в ділянках кісткової мінералізації. Імунопероксидазний метод. Збільшення  $\times 200$ .

Таким чином, підсумовуючи результати проведених морфологічних досліджень, зазначимо, що застосування в експериментальній моделі тільки стрептозотоцину (перша дослідна група) демонструє незначну резорбцію кісткової тканини, яка може посилюватися прозапальними стимулами, зокрема з боку періодонтальної зв'язки, після застосування препарату пеніциламіну (друга дослідна група). При цьому відбувається достовірне пришвидшення резорбції кісткової тканини, вірогідно пов'язане з активацією остеокластів через систему OPG-RANK-RANKL, яка, в свою чергу, активується прозапальними цитокінами.

Подібні висновки підтверджуються роботами інших дослідників, згідно яких підвищення прозапальних факторів у м'яких тканинах пацієнтів із погано контрольованим діабетом свідчить про велику ймовірність загострення пародонтиту [262]. Це підтверджено результатами нашого гістологічного дослідження

кортикальної пластинки нижньої щелепи. У щурів з експериментальним цукровим діабетом першої та другої груп спостерігались ознаки хронічного пародонтиту з наявністю дифузного лімфоцитарного інфільтрату. У нашому дослідженні в першій та другій групах встановлено збільшення кількості остеокластів у трабекулярній кістці, зниження експресії остеопонтину в альвеолярній кістці. Одночасно застосування стрептозотоцину в першій групі викликало незначну резорбцію альвеолярної кістки, яку у другій групі вдалося посилити введенням пеніциламіну як додаткового прозапального чинника.

В свою чергу, застосування стронцію ранелату достовірно уповільнювало процеси кісткової резорбції за рахунок як пригнічення функції остеокластів, так і за рахунок активації остеобластів, стимулюючи таким чином остеогенез. Результати експериментальних досліджень підтвердили, що здатність стронцію послаблювати стимульовану ліпополісахаридами експресію прозапальних цитокінів і пригнічену ліпополісахаридом ранню остеогенну диференціацію клітин пародонтальної зв'язки людини [313]. Згідно з даними [319] ремоделювання кістки починається з резорбції кістки остеокластами з подальшим утворенням нової кістки остеобластами в лакунах резорбції.

Таким чином, внаслідок проведеного дослідження було вивчено потенційний механізм втрати кісткової маси, що посилюється діабетом, опосередковано остеобластами та остеокластами. Дійсно, у цьому дослідженні на щурах третьої групи ми спостерігали, що стронцію ранелат усуває запалення, пригнічує остеокласти, активує остеобласти, таким чином стимулює остеогенез.

Застосування стронцію ранелату сприяло зниженню кількості остеокластів до показника контрольної групи. Це цілком узгоджується з даними про те, що у щурів з експериментальним пародонтитом стронцію ранелат може зменшувати активатор рецептора ліганду ядерного фактору капа  $\beta$  (RANKL) і кількість остеокластів, а також втрату альвеолярної кістки [180].

У третій групі встановлено збільшення кількості активних остеобластів та найбільш інтенсивну експресію остеопонтину, як у трабекулярній, так і в компактній кістковій тканині. Подібне спостереження довело активацію

остеобластів і стимуляцію остеогенезу стронцію ранелатом. Можна провести паралелі з дослідженням, в якому лігатурно-індукованій втраті альвеолярної кістки перешкоджало підвищення експресії кісткових маркерів, що виробляються остеобластами в якості антирезорбтивних агентів [221].

До того ж отримані нами результати перекликаються з даними [317] про те, що стронцій-мезопористе біоактивне скло здатне сприяти регенерації пародонта порівняно з мезопористим біоактивним склом. Отже, вивільнення іонів стронцію ранелатом стронцію має прямий вплив на запобігання активації остеокластів і сприяння диференціювання остеобластів. У нашому дослідженні ми отримали подібні результати.

Таким чином, експериментальна модель ЦД 2, заснована на застосуванні стрептозотоцину, демонструє незначну резорбцію альвеолярної кістки, яка може посилюватися прозапальними стимулами, зокрема застосуванням пеніциламину, що призводить до достовірного прискорення резорбції кісткової тканини, пов'язаного з активацією остеокластів. Послідовне застосування препаратів стронцію достовірно уповільнює процеси резорбції кісткової тканини як за рахунок пригнічення функції остеокластів, так і за рахунок активації остеобластів, що в цілому стимулює остеогенез.

Одержані дані гістологічного, гістоморфометричного та імуногістохімічного досліджень цілком збігаються з результатами біохімічного аналізу сироватки крові щурів з експериментальним генералізованим пародонтитом на тлі ЦД 2, де ми спостерігали достовірне порушення кісткового метаболізму, що проявлялося збільшенням активності тартратрезистентної кислої фосфатази, яка відображає функцію остеокластів, та зниженням активності кісткової лужної фосфатази, як показника активності остеобластів. В свою чергу, у щурів, в яких застосовано стронцію ранелат, кістковий метаболізм вдалося нормалізувати, а отже нормалізувати клітинний баланс між остеокластами та остеобластами.

У підсумку отримані результати експериментальних досліджень дозволили нам провести клінічну апробацію стронцію ранелату в хворих на генералізований пародонтит на тлі ЦД 2.

Результати досліджень, приведених у даному розділі, представлені в роботах [30, 225, 226].

## РОЗДІЛ 5

### **РЕЗУЛЬТАТИ КЛІНІЧНОЇ АПРОБАЦІЇ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ ГЕНЕРАЛІЗОВАНОГО ПАРОДОНТИТУ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ПРЕПАРАТІВ СТРОНЦІУ В ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ**

Традиційно комплексне лікування хворих на генералізований пародонтит полягає в усуненні патологічного процесу в тканинах пародонта шляхом видалення зубних відкладень, корекції оклюзійних співвідношень, а також використання у складі місцевої та загальної терапії антимікробних, протизапальних, десенсибілізуючих, імуномодельюючих засобів, та рідше воно доповнюється остеотропною терапією – засобами, що специфічно стимулюють метаболізм та сприяють регенерації кісткової тканини.

Згідно результатів експериментальних досліджень, приведених в попередніх розділах, застосування стронцію ранелату в комплексній терапії хворих на генералізований пародонтит на тлі компенсованої форми ЦД 2 дозволяє збільшити ефективність лікування, насамперед, за рахунок нормалізації кісткового метаболізму та мінерального обміну, в зв'язку з чим нами було проведене клінічне випробовування, результати якого представлені в даному розділі.

Відібрані для апробації хворі мали генералізований пародонтит, який відповідав I-II ступеню тяжкості, що було підтверджено результатами клінічного обстеження. Гігієнічний індекс за Федоровим-Володкіною серед дослідних хворих становив в середньому  $2,50 \pm 0,20$  балів. Проба Шилера-Пісарєва була позитивною для всіх хворих. Індекс РМА дорівнював в середньому  $2,16 \pm 0,17$  балів.

Згідно аналізу ортопантограм та комп'ютерних томограм встановлено зниження міжзубних перегородок на 1/3-1/2 висоти коренів зубів, руйнування кортикальної пластинки з оральної та вестибулярної поверхонь альвеолярних відростків щелеп, більш виражене в бокових відділах, менше – у фронтальних. Реєструвалася втрата кісткової тканини за висотою та товщиною альвеолярних

відростків в бокових відділах верхньої та нижньої щелеп. Відзначалися кісткові кишені глибиною 3-5 мм. Зниження мінеральної щільності кісткової тканини у хворих дослідних груп склало в середньому для обох щелеп до  $1200 \pm 70,0$  НУ.

У найближчий термін спостереження в хворих обох дослідних груп проведене комплексне лікування генералізованого пародонтиту призвело до клінічної стабілізації запально-деструктивного процесу в навкол зубних тканинах (рис. 5.1). Зникнення основних клінічних симптомів запалення в тканинах пародонта в обох групах спостерігалось на 8-10 день від початку лікування, тоді як остаточна ліквідація запальних явищ реєструвалася через 10-12 днів.

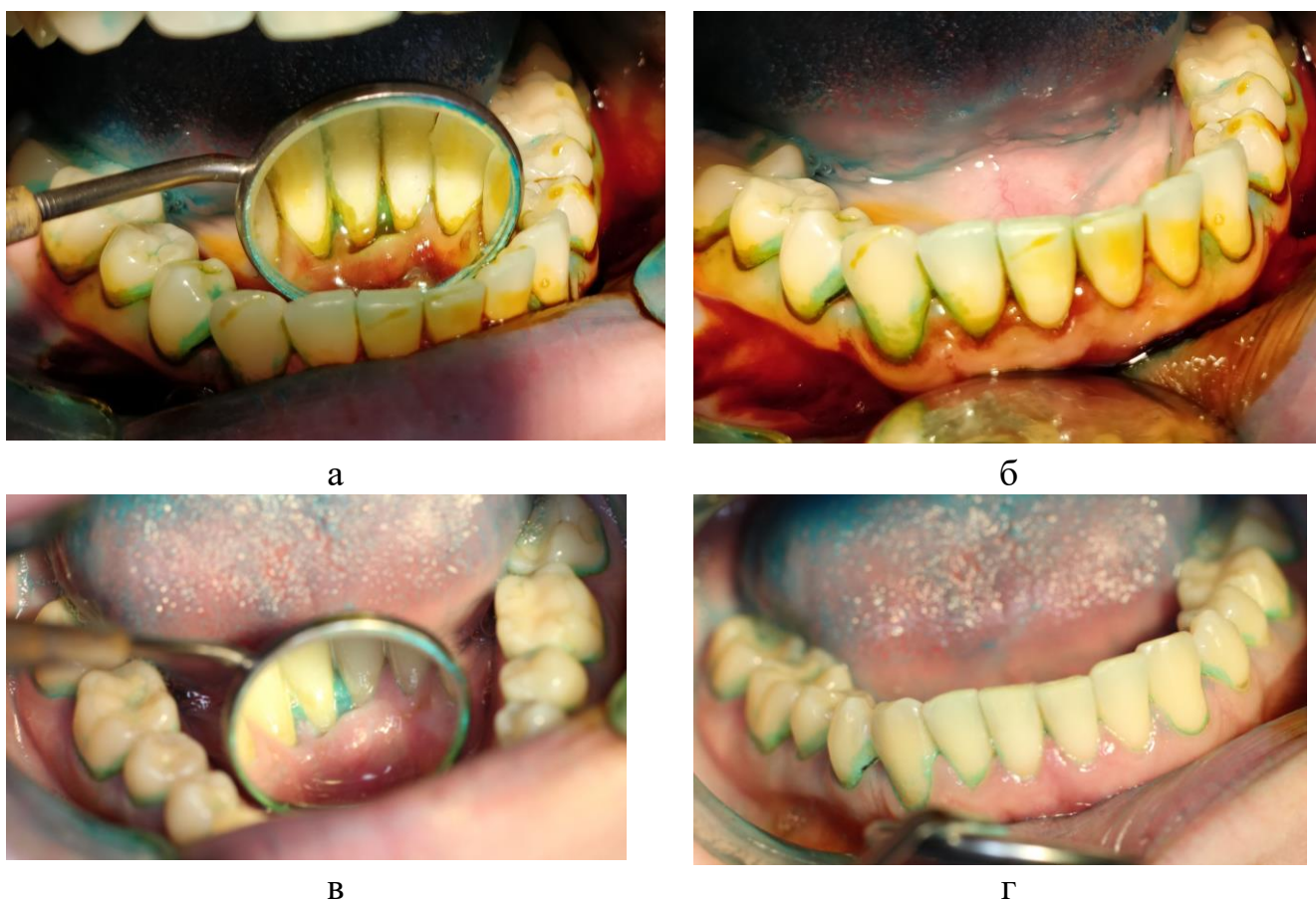


Рис. 5.1. Динаміка стану тканин пародонта в хворій М., 44 роки, основна група: а, б – до лікування; в, г – після

Проведене лікування значно зменшувало рівень неприємних відчуттів у пацієнтів обох дослідних груп. В них спостерігалось зникнення болю, печії, свербіння в яснах, зменшення набряку, зникнення рухомості зубів під час

накушування. Суб'єктивні відчуття в групі зіставлення зменшувалися на п'яту добу в 60,0% хворих, повністю припинялися на 8 добу в 20,0%, а на 10 добу – в 20,0%. В основній групі суб'єктивні відчуття зменшувалися на п'яту добу в 80,0% хворих, повністю припинялися на 8 добу в 10,0%, а на 10 добу – в 10,0%.

В цілому, в пацієнтів із групи зіставлення клінічне одужання зареєстроване в 83,3 % випадків, покращення – в 16,7%. У хворих основної групи повна ліквідація запалення встановлена в 86,7% спостережень, покращення – у решти 13,3% (рис. 5.2). Випадків неефективності проведеного лікування у найближчий термін не зареєстровано.

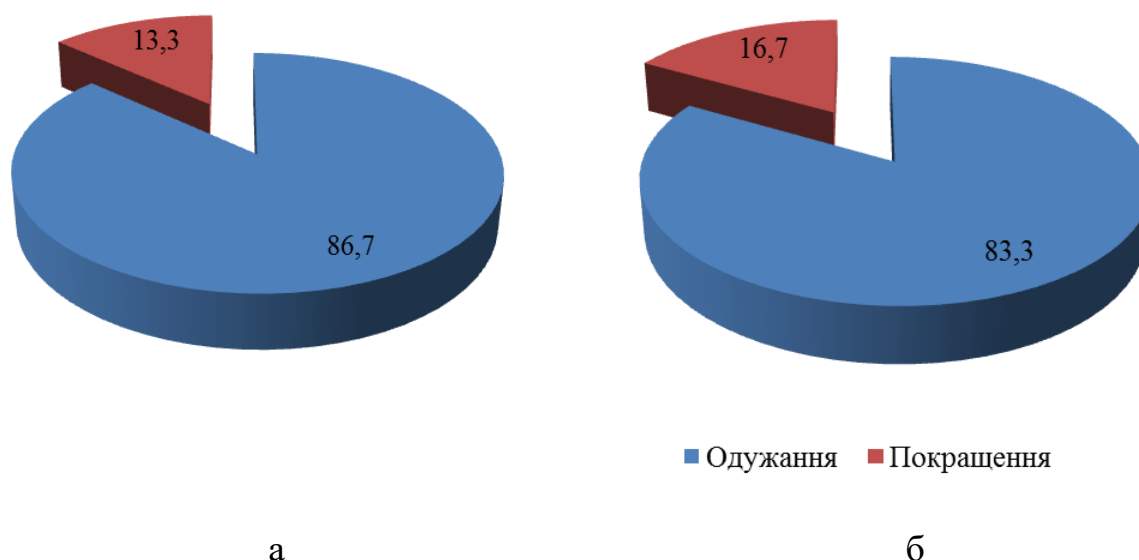


Рис. 5.2. Результати лікування хворих із дослідних груп у найближчий термін спостереження: а – основна, б – зіставлення (%)

Про зниження рівня запального процесу в тканинах пародонта свідчило покращення стану гігієни ротової порожнини в найближчий термін спостереження (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

**Значення індексу стану гігієни порожнини рота в хворих дослідних груп у процесі лікування (бали,  $M \pm m$ )**

| Термін спостереження |                | Група                 |                            | p I-II |
|----------------------|----------------|-----------------------|----------------------------|--------|
|                      |                | основна (I)<br>(n=30) | зіставлення (II)<br>(n=30) |        |
| до лікування (1)     |                | 2,52±0,20             | 2,50±0,20                  | >0,05  |
| після лікування      | найближчий (2) | 1,42±0,09             | 1,45±0,09                  | >0,05  |
|                      | віддалений (3) | 1,50±0,10             | 1,58±0,12                  | >0,05  |
| p 1-2                |                | <0,001                | <0,001                     |        |
| p 2-3                |                | >0,05                 | >0,05                      |        |
| p 1-3                |                | <0,001                | <0,001                     |        |

Якщо до лікування в хворих обох груп індекс ІГ дорівнював у середньому  $2,50 \pm 0,20$  балів, то після –  $1,45 \pm 0,09$  балів для групи зіставлення та  $1,42 \pm 0,09$  балів – для основної ( $p < 0,05$ ). Через 1 рік після проведеного лікування в обох групах спостерігалось некритичне погіршення стану гігієни ротової порожнини (рис. 5.3).

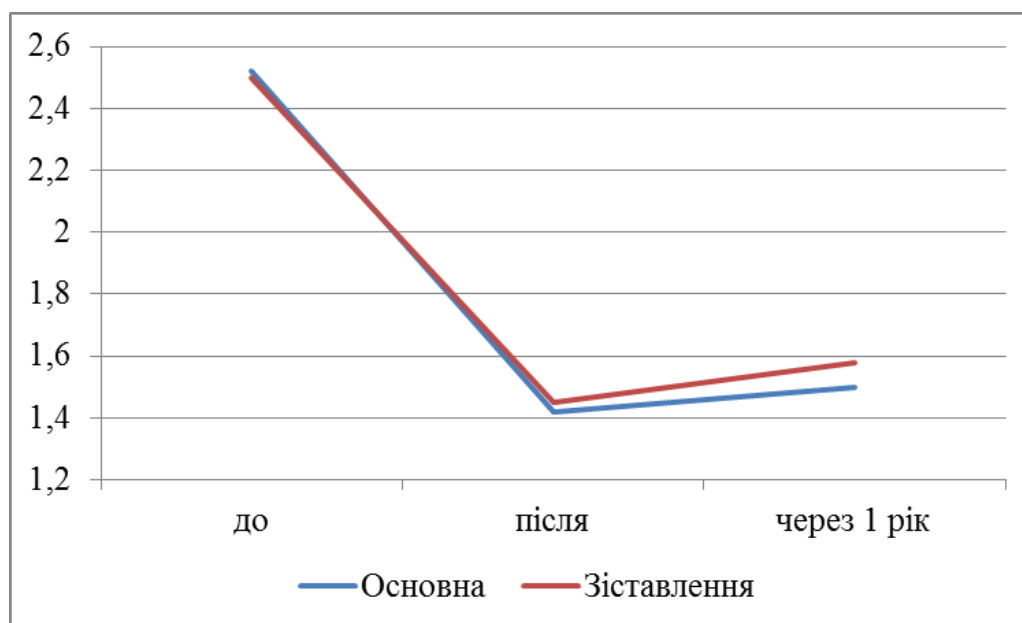


Рис. 5.3. Динаміка індексу стану гігієни порожнини рота в хворих дослідних груп у різні періоди спостереження (бали)

В свою чергу порівняльна оцінка значень індексу стану ясен РМА, представлена в табл. 5.2, не дозволила розрахувати значущу різницю між показниками дослідних груп як у найближчий, так і у віддалений термін спостереження ( $p > 0,05$ ).

Таблиця 5.2

**Значення гінгівального індексу (РМА) в хворих дослідних груп у процесі лікування (бали,  $M \pm m$ )**

| Термін спостереження |                | Група                 |                            | Р I-II |
|----------------------|----------------|-----------------------|----------------------------|--------|
|                      |                | основна (I)<br>(n=30) | зіставлення (II)<br>(n=30) |        |
| до лікування (1)     |                | 2,16 $\pm$ 0,10       | 2,15 $\pm$ 0,07            | >0,05  |
| після лікування      | найближчий (2) | 0,38 $\pm$ 0,03       | 0,40 $\pm$ 0,03            | >0,05  |
|                      | віддалений (3) | 0,40 $\pm$ 0,04       | 0,44 $\pm$ 0,05            | >0,05  |
| p <sub>1-2</sub>     |                | <0,001                | <0,001                     |        |
| p <sub>2-3</sub>     |                | >0,05                 | >0,05                      |        |
| p <sub>1-3</sub>     |                | <0,001                | <0,001                     |        |

Як видно з рис. 5.4, у віддалений термін після проведеного лікування спостерігалось однакове несуттєве погіршення значення даного індексу в обох дослідних групах ( $p > 0,05$ ).

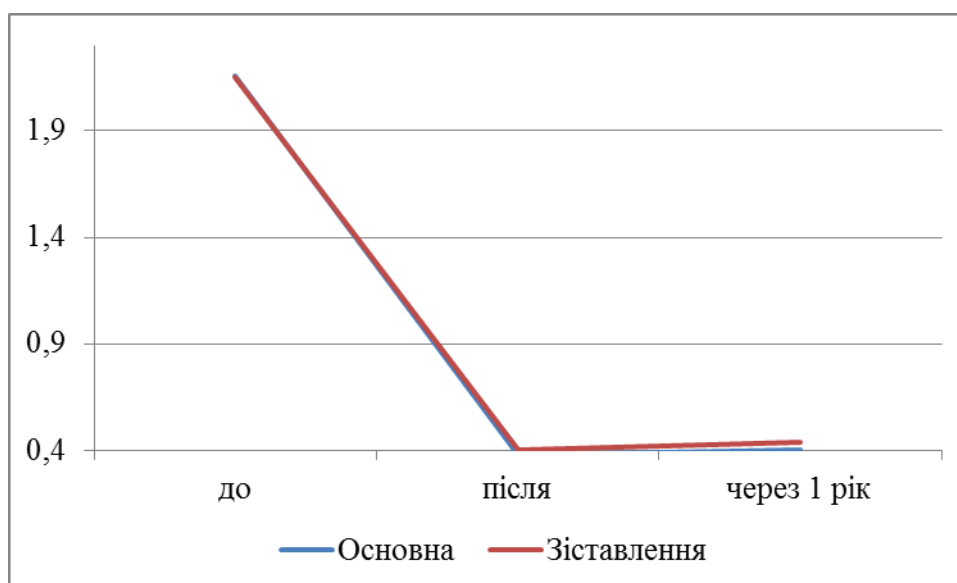


Рис. 5.4. Динаміка гінгівального індексу (РМА) в хворих дослідних груп у різний термін спостереження (бали)

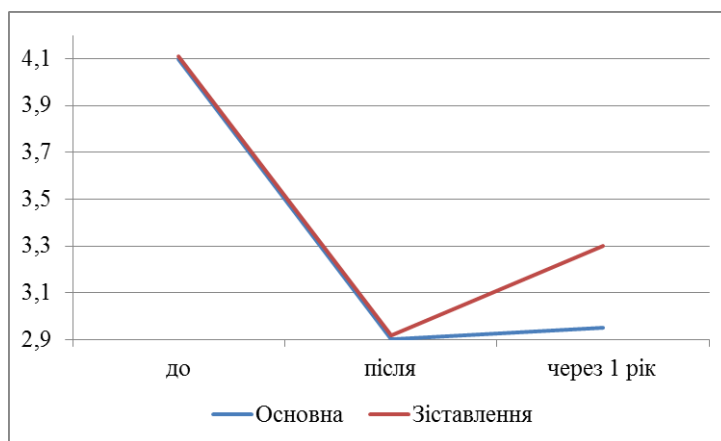
Щодо комплексних пародонтальних індексів (Рамфйорда, ПІ та СРІТН), їх значення практично не відрізнялися в дослідних групах відразу після лікування (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

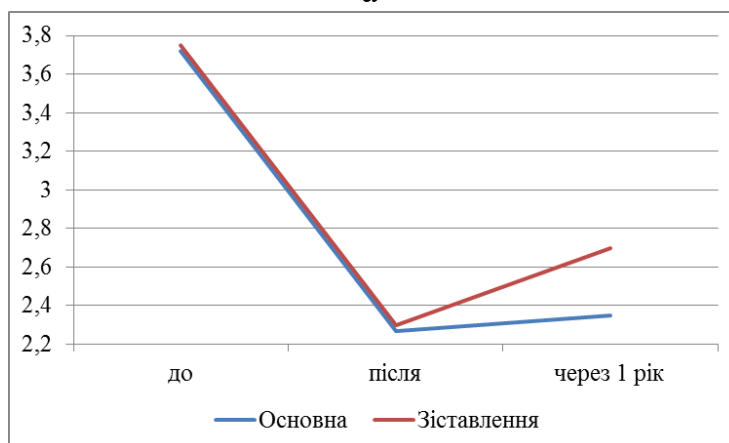
**Значення пародонтальних індексів у хворих дослідних груп в процесі лікування (бали,  $M \pm m$ )**

| Індекс              | Термін спостереження |                | Група                 |                            | Р I-II |
|---------------------|----------------------|----------------|-----------------------|----------------------------|--------|
|                     |                      |                | основна (I)<br>(n=30) | зіставлення<br>(II) (n=30) |        |
| Індекс<br>Рамфйорда | до лікування (1)     |                | 4,10±0,15             | 4,11±0,15                  | >0,05  |
|                     | після<br>лікування   | найближчий (2) | 2,90±0,10             | 2,92±0,10                  | >0,05  |
|                     |                      | віддалений (3) | 2,95±0,11             | 3,30±0,11                  | <0,05  |
|                     | p <sub>1-2</sub>     |                | <0,001                | <0,001                     |        |
|                     | p <sub>2-3</sub>     |                | >0,05                 | >0,05                      |        |
|                     | p <sub>1-3</sub>     |                | <0,001                | <0,001                     |        |
| ПІ                  | до лікування (1)     |                | 3,72±0,10             | 3,75±0,10                  | >0,05  |
|                     | після<br>лікування   | найближчий (2) | 2,27±0,08             | 2,35±0,08                  | >0,05  |
|                     |                      | віддалений (3) | 2,30±0,09             | 2,70±0,10                  | <0,05  |
|                     | p <sub>1-2</sub>     |                | <0,001                | <0,001                     |        |
|                     | p <sub>2-3</sub>     |                | >0,05                 | >0,05                      |        |
|                     | p <sub>1-3</sub>     |                | <0,001                | <0,001                     |        |
| СРІТН               | до лікування (1)     |                | 3,68±0,14             | 3,69±0,14                  | >0,05  |
|                     | після<br>лікування   | найближчий (2) | 2,48±0,10             | 2,52±0,11                  | >0,05  |
|                     |                      | віддалений (3) | 2,50±0,11             | 2,86±0,12                  | <0,05  |
|                     | p <sub>1-2</sub>     |                | <0,001                | <0,001                     |        |
|                     | p <sub>2-3</sub>     |                | >0,05                 | >0,05                      |        |
|                     | p <sub>1-3</sub>     |                | <0,001                | <0,001                     |        |

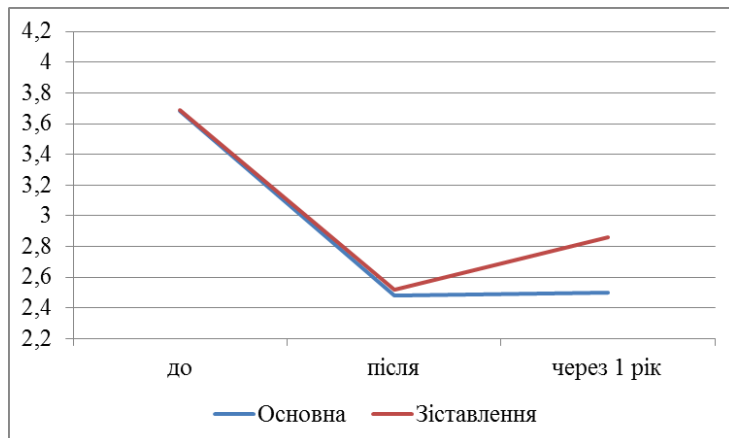
Проте через рік спостереження стан тканин пародонта у хворих дослідних груп різнився (рис. 5.5). У 16,7 % хворих із групи зіставлення діагностований рецидив запально-деструктивного процесу, тоді як в основній групі випадків погіршення стану пародонта не виявлено. Отримані нами результати підтверджують дані [58], згідно яких динаміка комплексних індексів стану навколозубних тканин є найбільш показовою щодо комплексного лікування пародонтиту на тлі цукрового діабету.



а



б



в

Рис. 5.5. Динаміка пародонтальних індексів у хворих дослідних груп у різний термін спостереження (бали):

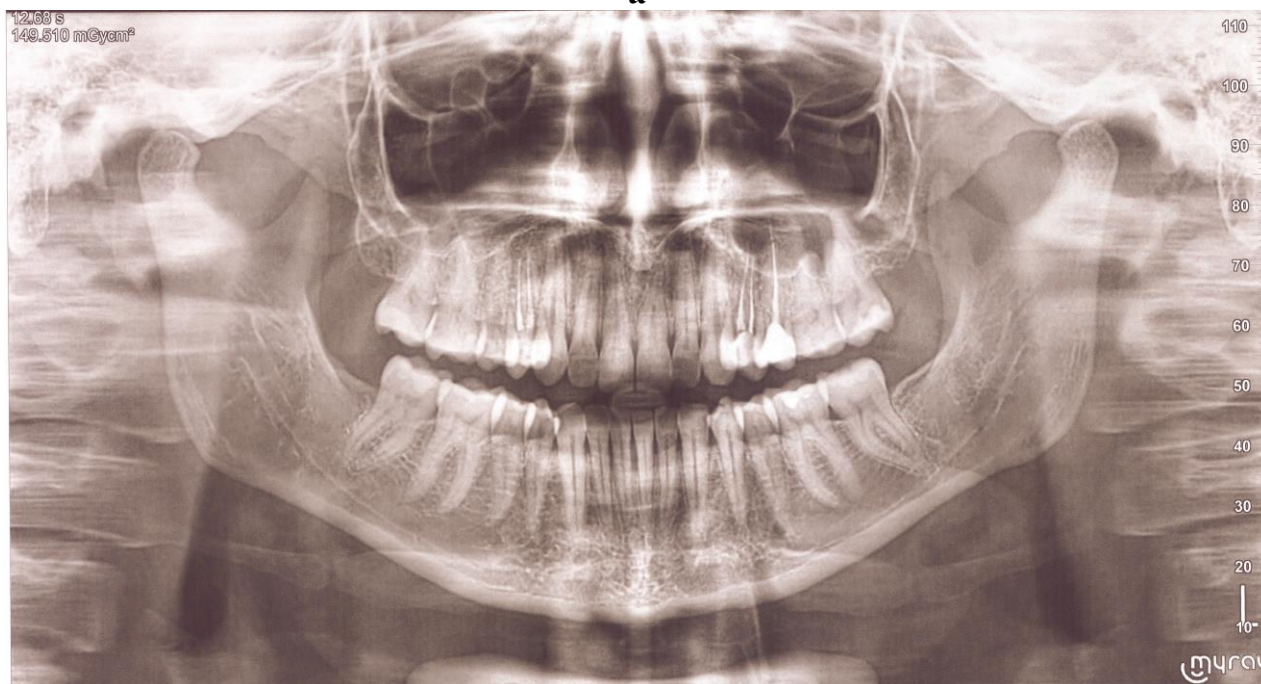
а – індекс Рамфйорда, б – ПІ, в - SPITN

Таким чином, встановлена нами достовірна різниця між значеннями комплексних пародонтальних індексів в дослідних групах через рік після проведеного лікування ( $p < 0,05$ ) свідчить про більшу його ефективність у хворих основної групи у віддалений термін спостереження.

Через 1 рік після проведеного лікування клініко-рентгенологічна стабілізація відзначалась у 83,3% хворих групи зіставлення та у 100% – основної групи. За даними рентгенологічних досліджень у дослідних основної групи спостерігали симптоми зниженої активності резорбції та відновлення структури кісткової тканини (рис. 5.6).



**а**



**б**

Рис. 5.6. Ортопантомограми хворої М., 44 роки, з основної групи:  
а – до лікування; б – через 1 рік після лікування

Відповідно, у віддалений термін спостереження для дослідних груп різнилися значення індексу активності остеопорозу ( $p > 0,05$ ). Так, в основній групі даний показник складав  $7,1 \pm 0,5$  балів проти  $8,3 \pm 0,6$  до лікування ( $p > 0,05$ ), в групі зіставлення він зменшувався до значень  $7,5 \pm 0,5$  балів проти  $8,1 \pm 0,6$  балів до лікування ( $p > 0,05$ ).

Позитивна динаміка стану кісткової тканини пародонта за даними комп'ютерної томографії полягала у зниженні ступеня втрати крайових відділів альвеолярних відростків щелеп, зменшенні вогнищ остеопорозу кортикальних пластинок, зниженні рівня резорбції кісткової тканини альвеолярних відростків за товщиною та висотою, збільшенні мінеральної щільності кісткової тканини.

Так, результати комп'ютерного томографічного дослідження щелепних кісток представлені в табл. 5.4.

Таблиця 5.4

**Показники мінеральної щільності кісткової тканини (BMD)  
у хворих на генералізований пародонтит дослідних груп у процесі лікування  
(HU,  $M \pm m$ ,  $p > 0,05$ )**

| Група                 | Термін спостереження | Локалізація вимірювань |                     |
|-----------------------|----------------------|------------------------|---------------------|
|                       |                      | верхня щелепа          | нижня щелепа        |
| Зіставлення<br>(n=30) | до лікування         | $1200,8 \pm 70,0$      | $1273,3 \pm 87,4$   |
|                       | після лікування      | $1314,4 \pm 75,8$      | $1340,8 \pm 110,0$  |
| Основна<br>(n=30)     | до лікування         | $1160,5 \pm 73,0$      | $1200,5 \pm 75,5$   |
|                       | після лікування      | $1375,4 \pm 80,0^*$    | $1415,0 \pm 83,0^*$ |

Примітки. 1. \* –  $p < 0,05$  для значень до та після лікування.

2.  $p > 0,05$  для значень груп зіставлення та основної.

Як видно з приведених даних, внаслідок проведеного комплексного лікування спостерігалось збільшення показника мінеральної щільності кісткової тканини BMD в обох групах спостереження, проте лише в основній групі різниця між показниками

до та після лікування була достовірною ( $p < 0,05$ ). Утім треба відзначити, що достовірної різниці між значеннями показника BMD в основній та групі порівняння після лікування не встановлено ( $p > 0,05$ ).

Використовуючи висновки роботи [47], встановлене нами зменшення мінеральної щільності кісткової тканини у хворих на генералізований пародонтит на тлі ЦД 2 зумовлене, з одного боку, місцевими процесами, а з іншого – порушенням загальносоматичного статусу, а саме наявністю остеопенічного процесу як додаткового фактору, що погіршує процес.

Отримані результати структурно-функціонального аналізу кісткової складової пародонта співпадали з даними біохімічних досліджень у хворих дослідних груп, отриманих в процесі проведеного лікування (вони представлені у табл. 5.5).

Встановлене у хворих обох дослідних груп гальмування запально-деструктивного процесу в тканинах пародонта після проведеного лікування призвело до зниження активності тартратрезистентної кислоти фосфатази (TRAP) у сироватці крові (рис. 5.7) та концентрації фрагментів  $\beta$ -CrossLaps у сечі (рис. 5.8), що свідчило про пригнічення резорбції кісткової тканини. При цьому більш виражена негативна динаміка всіх маркерів кісткової резорбції реєструвалася для хворих із основної групи ( $p < 0,05$ ).

Одночасно, рівень показників кісткового формування в хворих на генералізований пародонтит збільшувався, проте тільки в хворих основної групи зареєстровані достовірні відмінності між показниками до та після лікування ( $p < 0,05$ ).

В підтвердження, динаміка маркера кісткового формування – рівня лужної кісткової фосфатази (BAP) – представлена на рис. 5.9.

З огляду на те, що активність кислоти фосфатази відображає функцію остеокластів, а лужної – остеобластів [26], отримані нами результати біохімічних досліджень повністю збігаються з даними імуногістохімічного спостереження, приведеними в розділі 4.

Таблиця 5.5

**Динаміка показників метаболізму кісткової тканини в крові та сечі у хворих на генералізований пародонтит дослідних груп в процесі лікування ( $M \pm m$ )**

| Групи            | Термін спостереження | Маркери кісткової резорбції |                                      | Маркери кісткового формування |                  |                                                  | Показники мінерального обміну |                                   |                                               |
|------------------|----------------------|-----------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------|
|                  |                      | TRAP (од/л)                 | $\beta$ -CrossLaps (нг/г креатиніну) | Остеокальцин (нг/мол)         | ВАР (од/л)       | С-кінцевий пропептид проколагену I типу (нг/мол) | Паратгормон (пг/мол)          | Загальний кальцій крові (ммоль/л) | Загальний неорганічний фосфор крові (ммоль/л) |
| Зіставлення      | до лікування (1)     | 5,62 $\pm 0,20$             | 1,25 $\pm 0,08$                      | 16,00 $\pm 0,60$              | 8,80 $\pm 0,58$  | 53,74 $\pm 2,50$                                 | 48,15 $\pm 2,00$              | 2,12 $\pm 0,19$                   | 2,18 $\pm 0,17$                               |
|                  | після лікування (2)  | 5,12 $\pm 0,14$             | 1,06 $\pm 0,05$                      | 16,45 $\pm 0,50$              | 10,00 $\pm 0,44$ | 58,50 $\pm 2,30$                                 | 45,78 $\pm 1,66$              | 2,21 $\pm 0,12$                   | 2,05 $\pm 0,15$                               |
| P <sub>1-2</sub> |                      | <0,05                       | <0,05                                | >0,05                         | >0,05            | >0,05                                            | >0,05                         | >0,05                             | >0,05                                         |
| Основна          | до лікування (3)     | 5,70 $\pm 0,23$             | 1,28 $\pm 0,09$                      | 15,70 $\pm 0,51$              | 9,10 $\pm 0,50$  | 54,00 $\pm 2,50$                                 | 47,20 $\pm 1,50$              | 2,17 $\pm 0,20$                   | 2,23 $\pm 0,20$                               |
|                  | після лікування (4)  | 5,08 $\pm 0,12$             | 1,02 $\pm 0,05$                      | 16,90 $\pm 0,40$              | 11,20 $\pm 0,40$ | 61,00 $\pm 2,00$                                 | 47,80 $\pm 1,60$              | 2,32 $\pm 0,11$                   | 1,91 $\pm 0,12$                               |
| P <sub>3-4</sub> |                      | <0,05                       | <0,05                                | <0,05                         | <0,05            | <0,05                                            | >0,05                         | >0,05                             | >0,05                                         |

Примітка.  $p > 0,05$  між значеннями основної та групи зіставлення в однаковий термін спостереження.

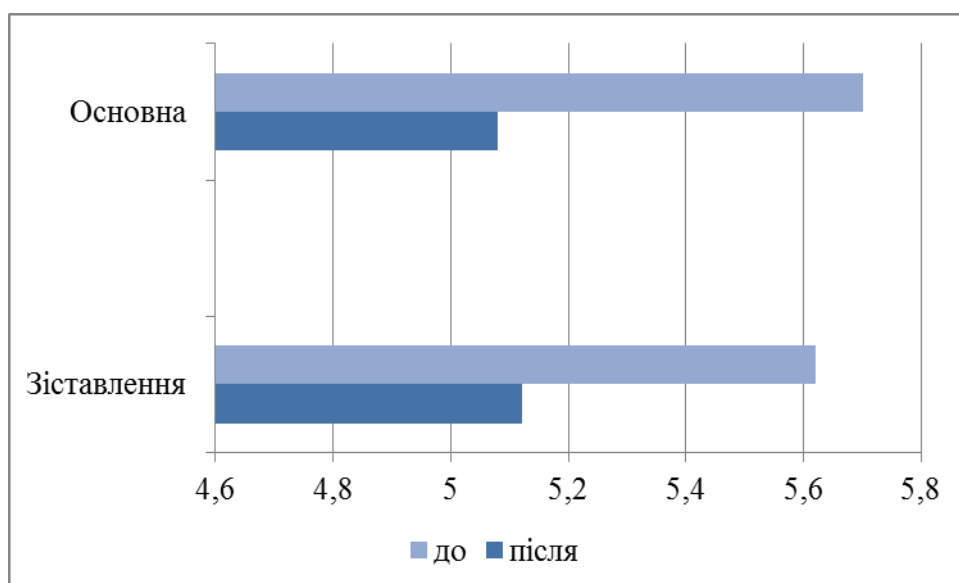


Рис. 5.7. Показники активності тартратрезистентної кислої фосфатази (TRAP) у сироватці крові хворих на генералізований пародонтит дослідних груп до та після лікування (од/л)

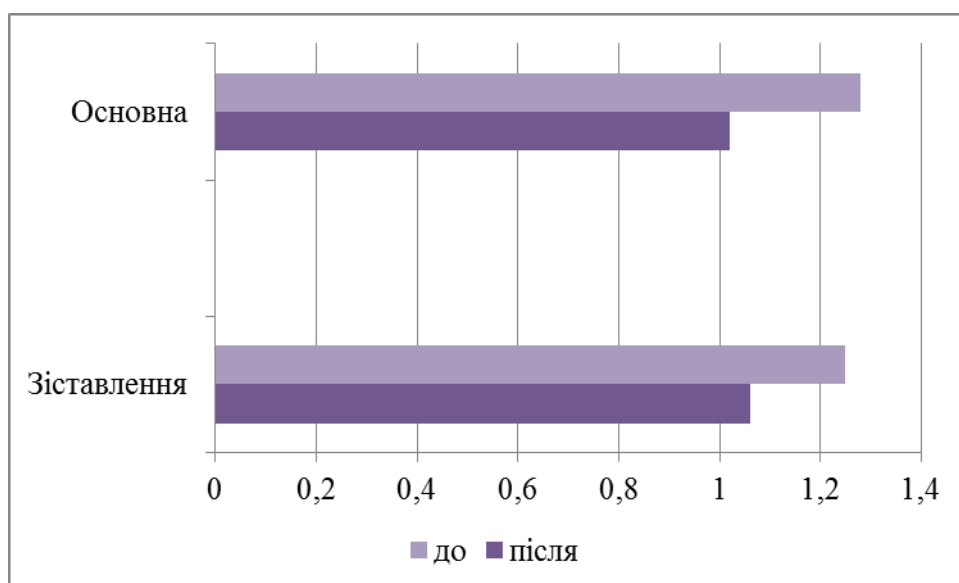


Рис. 5.8. Концентрації фрагментів  $\beta$ -CrossLaps у сечі хворих на генералізований пародонтит дослідних груп до та після лікування (нг/г креатиніну)

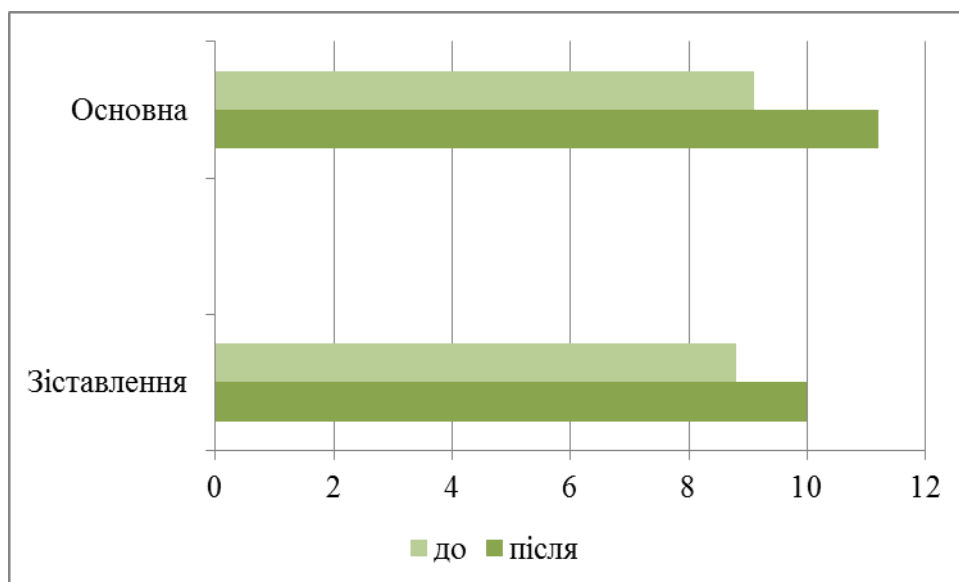


Рис. 5.9. Показники активності кісткової лужної фосфатази (BAP) у сироватці крові хворих на генералізований пародонтит дослідних груп до та після лікування (од/л)

Особливо показовими щодо ефективності проведеного лікування, на наш погляд, є зміни рівня остеокальцину в сироватці крові, тому що це – найінформативніший маркер формування кістки. Остеокальцин – неколагеновий білок кісткового матриксу, специфічний для кісткової тканини та дентину. Він синтезується переважно остеобластами та формує позаклітинний матрикс кістки. Фракція нового синтезованого остеокальцину звільнюється в кровообіг. В свою чергу, високий рівень паратгормону ПТГ в крові інгібує активність остеобластів, які продукують остеокальцин, і знижує його вміст у кістковій тканині і крові [25]. За даними [47] у хворих на генералізований пародонтит на тлі остеопенії спостерігається зменшення рівня остеокальцину в крові до  $18,84 \pm 0,8$  нг/мл проти  $30,48 \pm 0,74$  нг/мл здорових осіб. При погіршенні перебігу генералізованого пародонтиту відзначається достовірне зниження рівня остеокальцину в ротовій рідині [11].

В нашій роботі ми отримали відповідну динаміку рівня остеокальцину в сироватці крові, представлену на рис. 5.10. Показники збільшувалися внаслідок

проведеного лікування в обох групах, проте лише в хворих основної групи різниця між значеннями до та після лікування була достовірною ( $p < 0,05$ ).

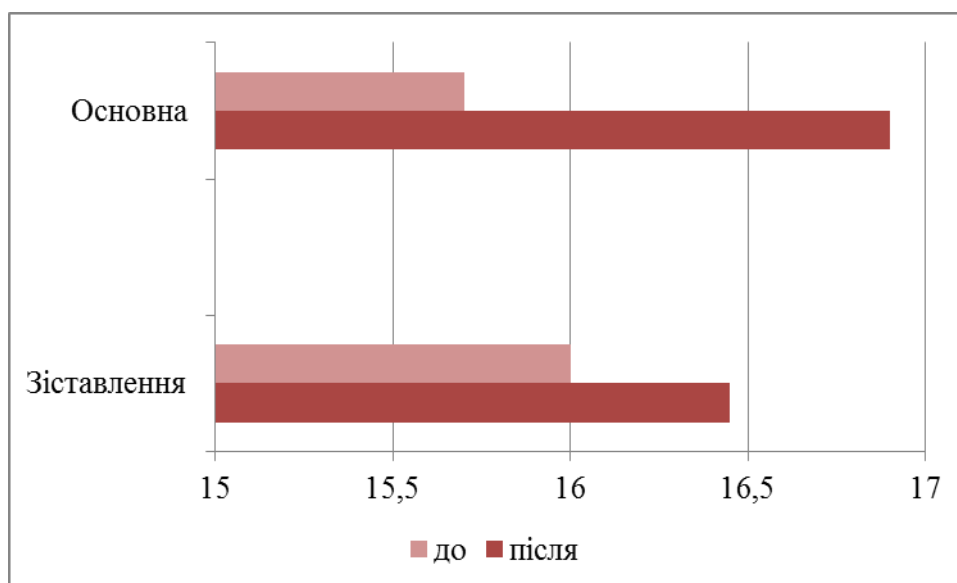


Рис. 5.10. Рівень остеокальцину в сироватці крові хворих на генералізований пародонтит дослідних груп до та після лікування (нг/мол)

Аналогічні зміни зареєстровані і для показника С-кінцевого пропептиду І типу проколагену у плазмі крові (рис. 5.11).

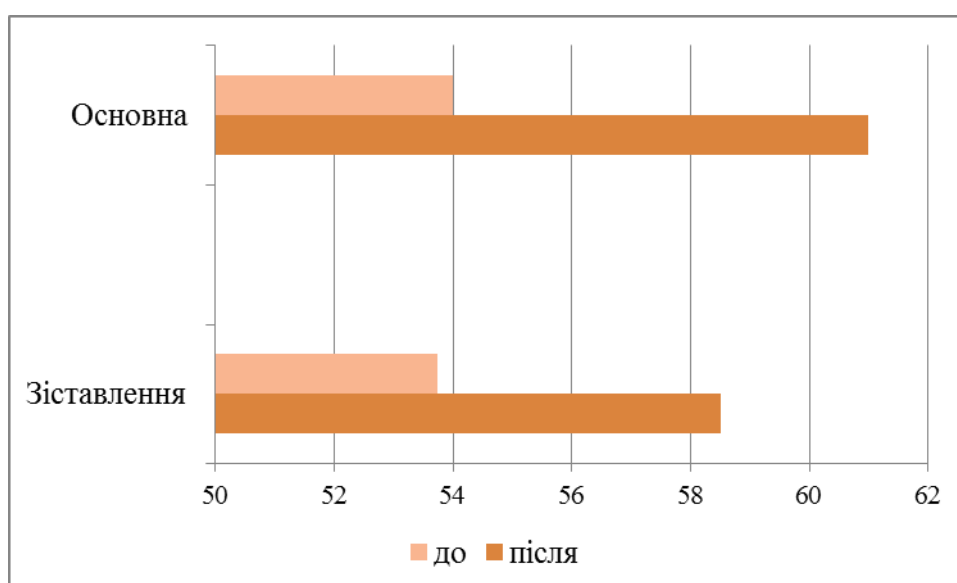


Рис. 5.11. Вміст С-кінцевого пропептиду І типу проколагену у плазмі крові хворих на генералізований пародонтит дослідних груп до та після лікування (нг/мол)

Щодо паратгормону в сироватці крові достовірної різниці між його значеннями до та після лікування, а також у порівнянні для дослідних груп не спостерігали (див. табл. 5.5,  $p > 0,05$ ).

Слід зазначити, що в роботі [6] доводиться, що вміст кальцію в сироватці крові знижується, а фосфору збільшується, при остеодefіцитних станах, які діагностуються у 70,0% обстежених з генералізованим пародонтитом. Одночасно при прогресуванні захворювання спостерігається тенденція до зниження співвідношення кальцій/фосфор, що, на думку авторів, ілюструє процеси руйнування кісткової тканини.

В нашому дослідженні показники мінерального обміну в кістковій тканині, як в процесі лікування, так і при порівнянні дослідних груп, майже не різнились (див. табл. 5.5,  $p > 0,05$ ). Ми пояснюємо це локальним характером деструктивного процесу в альвеолярній кістці, який не здатний суттєво відіграти на такій значимій константі для організму, як вміст кальцію в сироватці крові.

Підсумовуючи результати клінічної апробації, нами зроблено висновок, що перебіг генералізованого пародонтиту в хворих із ЦД 2 супроводжується активацією резорбтивних явищ у кістковій тканині на тлі пригнічення процесів її відновлення. Застосування стронцію ранелату в комплексному лікуванні захворювання в зазначеного контингенту хворих дозволяє забезпечити більш тривалу та стійку клініко-рентгенологічну стабілізацію запально-деструктивного процесу в тканинах пародонта, насамперед, за рахунок пригнічення процесів резорбції кісткової тканини та посилення процесів остеогенезу за показниками структурно-функціонального стану альвеолярної кістки та маркерами кісткового метаболізму.

Таким чином, стронцію ранелат може бути рекомендований до широкого впровадження в стоматологічну практику для доповнення комплексного лікування генералізованого пародонтиту в хворих із ЦД 2.

Основні наукові результати розділу опубліковані в працях [50].

## РОЗДІЛ 6

### АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Актуальність теми представленого дисертаційного дослідження ґрунтується на значній поширеності генералізованого пародонтиту та цукрового діабету як у всьому світі, так і в Україні зокрема.

Згідно проведеного нами аналізу літературних джерел вплив ЦД 2 на характер ураження тканин пародонта є однією з проблем, що останнім часом найбільш опрацьовуються.

Натепер доведено, що у пацієнтів з ЦД 2 ризик розвитку захворювань пародонта збільшується в три рази, порівняно з особами, які не мають подібних метаболічних розладів. Також стверджується, що при генералізованому пародонтиті мікробний фактор відіграє значну, проте не вирішальну роль. При цьому у хворих на ЦД 2 спостерігається гірший стан тканин пародонта та більш тяжкий перебіг генералізованого пародонтиту. Встановлено, що у зазначеного контингенту хворих запально-деструктивний процес у навколозубних тканинах перебігає особливо агресивно, зі схильністю до швидкого прогресування та призводить до значного ураження кісткової тканини в короткий термін та, як наслідок, до втрати зубів. Це пояснюється тим, що ЦД 2 здатний відігравати на усіх ланках патогенезу генералізованого пародонтиту, серед яких провідними є бактеріальна інвазія, стан загального та місцевого імунітету, порушення метаболізму, розлади кровообігу та зменшення репаративної здатності тканин пародонта.

При цьому найважливішим ускладненням генералізованого пародонтиту, а також прогностичною ознакою даного захворювання на тлі ЦД 2, є структурні порушення в альвеолярній кістці, які є наслідком розладів кісткового метаболізму, що описуються зниженням кісткового ремоделювання та підвищенням остеорезорбції, а також зниженням мінеральної щільності кісткової тканини.

Виходячи з того, що лікування генералізованого пародонтиту на тлі ЦД 2 є складною проблемою сучасної пародонтології, пошук альтернативних засобів в комплексному лікуванні захворювання, зокрема спрямованих на нормалізацію стану альвеолярної кістки, залишається і надалі актуальним.

На разі остаточно не з'ясовано, чи порушення в кістковій складовій пародонта є первинними при пародонтиті, тобто запалення розгортається на тлі проявів системного остеопорозу в щелепних кістках, чи, навпаки, запальний процес в яснах призводить до активації запально-деструктивного процесу в альвеолярній кістці. Безперечним є те, що хворі на генералізований пародонтит, який перебігає на тлі ЦД 2, потребують специфічної остеотропної терапії, спрямованої на нормалізацію метаболічних процесів в тканинах пародонта, зменшення активності перебудови міжзубних і міжкореневих кісткових перегородок шляхом зниження процесів резорбції і стимулювання репаративного остеогенезу в кістковій тканині альвеолярного відростка, стимулювання формування нової кісткової тканини шляхом активізації процесу диференціювання і проліферації клітин-попередників остеобластів, посилення утворення кісткового матриксу, а також оптимізації процесів його мінералізації.

Отже, мета представленого дослідження була визначена нами як підвищення ефективності комплексного лікування генералізованого пародонтиту в хворих із компенсованою формою ЦД 2 шляхом клініко-експериментального обґрунтування остеотропної терапії захворювання.

В зв'язку з цим, на наш погляд, найбільш перспективними на сьогодні щодо покращення остеогенної активності є препарати стронцію, а саме стронцію ранелат, ефективність якого доведена при системному остеопенії/остеопорозу, тоді як вплив на альвеолярну кістку при пародонтиті не вивчався. В свою чергу, загальновідомо, що найбільш ефективною формою апробації медикаментозного препарату є двоетапне випробовування, спочатку в експерименті на тваринах, а потім – в клінічних умовах, що і було відтворено в нашій роботі.

Насамперед, для проведення експерименту на щурах нами була розроблена оригінальна модель генералізованого пародонтиту на тлі ЦД 2, що передбачала

введення щурам нікотинаміду одноразово внутрішньочеревно у вигляді водного розчину із розрахунку 230 мг на кг маси щура і через 15 хвилин після цього стрептозотоцину у дозі 65 мг/кг у вигляді 5% розчину в цитратному буфері (рН 4,5), після чого через 6 діб з питною водою вводився ксенобіотик пеніциламін. Якщо відтворення гіперглікемічного стану в даній моделі забезпечувалося завдяки панкреатоксичної дії стрептозотоцину, яку підсилював нікотинамід, новизна моделі полягала у додатковому застосуванні пеніциламіну, який діяв спрямовано, викликаючи руйнування сполучнотканинного матриксу пародонта, зокрема його основних компонентів – фібрилярних білків (колагенів та еластинів), а також полісахаридів (протеогліканів та глікопротеїдів).

Таким чином, вплив стронцію ранелату на втрату альвеолярної кістки був вивчений нами на власній моделі експериментального пародонтиту на тлі цукрового діабету. Так, до дослідження було залучено 30 білих щурів-самців лінії Вістар масою 230-250 г, розділених на три однакові групи по 8 тварин. У першу групу увійшли тварини з експериментальним ЦД 2 внаслідок застосування стрептозотоцину та нікотинаміду. У другій групі додатково відтворювали пародонтит введенням пеніциламіну. В третій групі для лікування додатково використовували стронцію ранелат, внутрішньошлунково в дозі 250 мг/кг один раз на добу протягом останніх 28 діб експерименту. Контролем слугували 6 інтактних щурів.

На 60 добу проведення експерименту нами отримана різна картина стану тканин пародонта у щурів із різних дослідних груп. У тварин, в яких не використовували жодних медичних препаратів, стан тканин, що оточували зуби, характеризувався відсутністю запальних явищ у навколозубних тканинах. Навпаки, в особин першої та другої дослідних груп спостерігали рухомість зубів, явища гострого запалення в навколозубних тканинах, формування кишень з ексудативним вмістом. В свою чергу, у щурів третьої дослідної групи спостерігалось запалення тканин пародонта, проте меншої інтенсивності.

У свою чергу, за результатами біохімічного дослідження сироватки крові, встановлено достовірне зростання рівня глюкози в щурів усіх дослідних груп порівняно з показниками контролю ( $p < 0,05$ ). Найвищі рівні глюкози в крові

встановлені в тварин другої групи, в яких застосовано нікотинамід, стрептозотоцин та пеніциламін. Але додаткове введення пеніциламіну в тварин другої групи не призводило до достовірного зростання цього показника ( $p > 0,05$ ). Застосування стронцію ранелату теж достовірно не відіграло на концентрації глюкози в крові ( $p > 0,05$ ).

При експериментальному генералізованому пародонтиті на тлі ЦД 2 у щурів першої та другої групи в порівнянні з контролем активність тартратрезистентної кислої фосфатази (TRAP) у сироватці крові дослідних тварин підвищувалась, тоді як кісткової лужної фосфатази (BAP) зменшувалась ( $p > 0,05$ ). Індекс мінералізації, що є співвідношенням вмісту лужної та кислої фосфатаз та найбільш показовий щодо процесів мінералізації, достовірно зменшувався в експериментальних моделях пародонтиту на тлі ЦД 2 у тварин із першої та другої дослідних груп ( $p < 0,05$ ). Така біохімічна характеристика обмінних процесів у кістковій тканині підтверджувала результати, отримані в роботах попередників [26]. Тоді як застосування стронцію ранелату в щурів третьої групи дослідження сприяло підвищенню індексу мінералізації до значень контрольної групи ( $p > 0,05$ ), що свідчило про відновлення процесів остеогенезу та пригнічення кісткової резорбції, показано нами вперше.

Отримані результати клініко-біохімічного вивчення крові дослідних тварин цілком збігаються з результатами відтворення гіперглікемічного стану завдяки панкреатоксичної дії стрептозоточину [3]. Проте новим було доведення можливості застосування пеніциламіну для стимуляції запально-деструктивного процесу в пародонті, як альтернативи лігатурному зв'язуванню зубів [215].

Розвиток деструкції альвеолярної кістки в експериментальних тварин був підтверджений даними комп'ютерної томографії, згідно яких було встановлено, що щури з дослідних груп мають явища остеопорузу різного ступеня вираженості в нижньощелепних кістках, які проявляються зниженням мінеральної щільності кісткової тканини порівняно з контролем. Найбільш виражене зниження мінеральної щільності було зареєстровано при спільному застосуванні нікотинаміду, стрептозоточину та пеніциламіну, тоді як введення стронцію ранелату сприяло нормалізації даного показника. Отримані нами результати підтверджують дані

мікрокомп'ютерної томографії діабетичних мишей, згідно яких гіперглікемія призводить до зменшення висоти альвеолярної кістки та порушення маси альвеолярної кістки [301].

Ще одним підтвердженням порушень мінерального складу альвеолярного кістки в щурів з експериментальним пародонтитом на тлі ЦД 2 стали результати проведеної нами атомно-емісійної спектрометрії зразків нижньощелепних кісток. Також як в експерименті на щурах, в якому було доведено, що структурно-функціональні зміни в кістковій тканині пародонта призводять до порушення балансу хімічних елементів [24], нами встановлені значні коливання вмісту макрота мікроелементів у тварин різних дослідних груп, що свідчило про вплив застосованих медикаментозних препаратів на обмінні процеси в кістковій тканині. Найбільш показовими щодо описання порушень у мінеральному складі нижньощелепних кісток експериментальних щурів виявився індекс мінералізації (співвідношення кальцій/фосфор), який коливався від 1,14 у контрольній групі до 1,05 у першій групі та 1,0 у другій групі і збільшувався до 1,26 у третій групі. Встановлене порушення співвідношення кальцій/фосфор підтверджувалося зменшенням рівня магнію та стронцію при зростанні вмісту інших мікроелементів, що включаючись до структури апатитів, погіршували витривалість кісткової тканини.

В той же час, нами вперше було показано, що вміст стронцію у зразках третьої групи перевищував контрольні значення майже вдвічі ( $p < 0,001$ ) порівняно зі значним його зниженням у зразках першої та другої груп ( $p < 0,05$ ). Спираючись на результати досліджень [83, 277], можна припустити, що іони стронцію, потрапляючи в структуру гідроксиapatитів, активували ремінералізацію кісткової складової пародонта.

Одержані дані структурно-функціонального та атомно-емісійного спектрального аналізу кісткової тканини нижніх щелеп експериментальних тварин підтверджувалися даними морфологічного дослідження.

При порівнянні будови кортикальної пластинки нижньої щелепи тварин першої, третьої та контрольної груп жодних суттєвих відмінностей в кістковій

структурі не виявлено. Натомість у тварин другої групи спостерігалися нерівномірні потовщення кортикального шару, що були особливо помітні в ділянках альвеолярної кістки, де спостерігались ознаки хронічного пародонтиту з наявністю дифузного лімфоцитарного інфільтрату.

Для морфометричної характеристики залежності об'єму кісткової тканини від параметрів експерименту була обрана трабекулярна кістка міжкореневої перетинки першого моляра нижньої щелепи щура. Питома площа міжкореневої трабекулярної кістки варіювала в тварин різних груп дослідження. Так, у контрольній групі середній показник ПК/ПТ міжкореневих перегородок у ділянці першого нижнього моляра становив  $53,4 \pm 3,1\%$ . У першій групі цей показник дорівнював  $47,1 \pm 1,9\%$ . Відповідно в другій групі явища остеопорозу були найбільш вираженими (ПК/ПТ становив  $44,2 \pm 2,9\%$ ), тоді як у третій групі середній показник питомої площі міжкореневої кісткової тканини практично не відрізнявся від значень контрольної групи ( $49,0 \pm 3,2\%$ ). Проте статистично значущі відмінності спостерігалися лише між контрольною та другою групами ( $p < 0,05$ ).

У всіх групах виявлено відносно невеликий вміст остеокластів (не більше 3 клітин на  $\text{мм}^2$ ). Так, у контрольній групі цей показник становив  $2,24 \pm 1,41$  клітин на  $\text{мм}^2$ , у першій групі –  $4,34 \pm 1,37$  клітин на  $\text{мм}^2$ , у другій –  $2,96 \pm 1,26$  клітин на  $\text{мм}^2$  і в третій –  $2,24 \pm 1,41$  клітини на  $\text{мм}^2$  ( $p > 0,05$ ). Слід зазначити, що збільшення кількості остеокластів у першій та другій дослідних групах супроводжувалося зменшенням питомої площі трабекулярної кістки в ділянці першого моляра нижньої щелепи.

Серед достовірних відмінностей досліджуваних груп відзначалося збільшення кількості активних остеобластів у третій групі ( $p > 0,05$ ). При цьому найбільш об'єктивним показником активності остеобластів була експресія та розподіл остеопонтину в кістковому матриксі. Виявлено, що у зразках першої та контрольної груп спостерігалася знижена експресія остеопонтину в кістковій тканині альвеолярного відростка та його активне виділення в міжзубних перегородках. В другій дослідній групі виникали нерівномірні вогнища експресії остеопонтину в компактній кістковій тканині альвеолярного відростка нижньої щелепи поблизу зон

хронічного запалення в періодонтальній зв'язці. Зразки третьої групи щурів мали найбільш виразні прояви остеогенезу і, водночас, демонстрували найбільш інтенсивну експресію остеопонтину, як у трабекулярній, так і в компактній кістковій тканині. На відміну від другої групи, за інтенсивністю експресії це підвищення мало більш рівномірний характер.

Встановлена морфологічна картина в зразках тварин третьої групи цілком відповідала даним [319], згідно яких ремоделювання кістки починається з резорбції кістки остеокластами з подальшим утворенням нової структури остеобластами в лакунах резорбції. Одночасно застосування стронцію ранелату сприяло зниженню кількості остеокластів до показника контрольної групи, що відповідає даним, отриманим в дослідженні [180]. Це можна пояснити його дією щодо підвищення експресії кісткових маркерів, які виробляються остеобластами [221].

Таким чином, зразки третьої групи мали найбільш виразні процеси остеогенезу, що ілюструє інтенсивна експресія остеопонтину, як у трабекулярній, так і в компактній кістковій тканині. А застосування стронцію ранелату в експериментальній моделі пародонтиту в діабетичних щурів достовірно уповільнювало процеси резорбції кісткової тканини як за рахунок пригнічення функції остеокластів, так і за рахунок активації остеобластів.

Підсумовуючи результати експериментальних досліджень, відзначимо, що нами було доведене достовірне порушення кісткового метаболізму у відтворених експериментальних моделях, що характеризувалось збільшенням активності тартратрезистентної кислої фосфатази та зниженням активності кісткової лужної фосфатази, зменшенням мінеральної щільності кісткової тканини, а також порушенням клітинного балансу остеокласти/остеобласти. Таким чином, нами було уточнено механізми втрати кісткової маси у хворих на генералізований пародонтит, що посилюється ЦД 2, які узгоджувалися з результатами досліджень інших науковців [71, 154, 192, 299].

У свою чергу, в щурів, в яких застосовано стронцію ранелат, встановлені порушення кісткового метаболізму та мінерального обміну вдалося нормалізувати,

що було підтверджено зниженням активності остеокластів, активації остеобластів, а також ініціацією процесів ремінералізації кісткового матриксу.

В цілому отримані результати експериментальних досліджень дозволили нам проведення клінічної апробації стронцію ранелату у хворих на генералізований пародонтит на тлі ЦД 2.

Проведено клінічне випробування комплексного лікування генералізованого пародонтиту з додаванням стронцію ранелату серед 60 хворих на ЦД 2.

У найближчий термін спостереження проведене комплексне лікування генералізованого пародонтиту призвело до клінічної стабілізації запально-деструктивного процесу в тканинах пародонта без достовірної різниці між дослідними групами ( $p > 0,05$ ).

Проте через рік після лікування стан тканин пародонта у пацієнтів дослідних груп різнився. У 16,7 % пацієнтів групи порівняння діагностовано рецидив запально-деструктивного процесу в тканинах пародонта, тоді як в основній групі загострення патологічного процесу не виявлено. Достовірну різницю виявлено для комплексних пародонтальних індексів (Рамфйорда, РІ та СРІТN), які за даними [58] є показовими щодо комплексного лікування пародонтиту на тлі ЦД 2.

Клініко-рентгенологічна стабілізація патологічного процесу спостерігалась у 83,3 % пацієнтів групи зіставлення та в 100 % пацієнтів основної групи. До того ж у дослідних основної групи за даними комп'ютерної томографії зареєстровано зниження активності резорбції та відновлення структури кісткової тканини. Нами було встановлено підвищення мінеральної щільності кісткової тканини в обох групах, але лише в основній групі різниця між показниками до та після лікування була достовірною ( $p < 0,05$ ).

Отримані результати структурно-функціонального аналізу альвеолярної кістки співпадали з даними біохімічних досліджень у хворих дослідних груп, отриманих в процесі проведеного лікування.

Так, у пацієнтів основної групи зареєстроване більш виражене зниження активності тартратрезистентної кислої фосфатази в сироватці крові та зменшення концентрації  $\beta$ -CrossLaps у сечі, що свідчило про пригнічення резорбції кісткової

тканини, а також зростання маркерів формування кісткової тканини – збільшення концентрації С-кінцевого пропептиду в плазмі крові та кісткової лужної фосфатази у сироватці крові ( $p < 0,05$ ).

Найбільш показовим маркером кісткового формування називають вміст остеокальцину в сироватці крові [11, 47]. При доповненні комплексного лікування генералізованого пародонтиту на тлі ЦД 2 стронцієм ранелатом встановлено достовірне зростання цього показника у хворих основної групи, що теж підтверджує виражену остеогенну дію препарату.

Показники мінерального обміну в кістковій тканині як під час лікування, так і після, для дослідних груп майже не відрізнялися ( $p > 0,05$ ), що суперечить даним [6, 25]. Така відмінність пояснюється нами різницею в контингенті дослідних, для якого, зокрема за даними проведеного нами імуногістологічного дослідження, в більшій мірі характерними є локальні зміни мінерального обміну в щелепних кістках, а не системні остеопенічні/остеопоротичні порушення.

Підсумовуючи результати клінічного випробовування, можемо стверджувати, що застосування стронцію ранелату в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту в хворих на ЦД 2 здатне забезпечити більш тривалу та стійку клініко-рентгенологічну стабілізацію патологічного процесу в тканинах пародонта, насамперед, за рахунок пригнічення резорбції кісткової тканини та посилення остеогенезу.

Отримані результати експериментального та клінічного досліджень дозволили нам рекомендувати застосовувати остеотропну терапію, доповнену стронцієм ранелатом, у комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту в хворих із ЦД 2.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення експериментальних, клінічних, лабораторних, рентгенологічних досліджень і запропоноване вирішення науково-практичної задачі – підвищення ефективності комплексного лікування хворих на генералізований пародонтит із компенсованою формою цукрового діабету 2 типу на основі удосконалення ситемної остеотропної терапії.

1. Експериментальна модель, що відтворюється шляхом введення щурам нікотинаміду одноразово внутрішньочеревно у вигляді водного розчину з розрахунку 230 мг на кг маси тварини і через 15 хвилин після цього стрептозотоцину у дозі 65 мг/кг у вигляді 5% розчину в цитратному буфері (рН 4,5), а також введенням пеніциламіну з питною водою через 6 діб, відтворює активний перебіг генералізованого пародонтиту, який розвивається на тлі метаболічних порушень при цукровому діабеті 2 типу, за показниками біохімічного аналізу крові, комп'ютерної томографії, атомно-емісійного аналізу хімічного складу та морфологічного дослідження нижніх щелеп дослідних тварин.

2. За результатами комп'ютерної томографії в експериментальній моделі пародонтиту, який розвивається на тлі цукрового діабету 2 типу, у щурів спостерігається зниження показника мінеральної щільності нижніх щелеп до  $1100,0 \pm 110,0$  NU порівняно з  $1450,0 \pm 125,0$  NU контролю ( $p < 0,05$ ), тоді як використання стронцію ранелату призводить до нормалізації даного показника ( $1400,0 \pm 137,0$  NU,  $p < 0,05$ ).

3. В експериментальній моделі пародонтиту, який розвивається на тлі цукрового діабету 2 типу, у щурів у зразках нижніх щелеп спостерігається порушення співвідношення кальцій/фосфор (1,05 проти 1,14 контролю), яке підтверджується зменшенням рівня магнію та стронцію ( $p < 0,001$ ) при зростанні вмісту інших мікроелементів ( $p < 0,05$ ), які включаючись до структури апатитів погіршують витривалість кісткової тканини. Тоді як застосування стронцію ранелату сприяє зростанню співвідношення кальцій/фосфор до 1,26 та збільшенню

вмісту стронцію ( $p < 0,001$ ) на тлі зменшення масової частки інших мікроелементів ( $p < 0,05$ ), що вказує на активацію ремінералізації кісткової складової пародонта.

4. Гістологічно в зразках нижніх щелеп щурів, в яких була відтворена експериментальна модель пародонтиту, що розвивається на тлі цукрового діабету 2 типу, спостерігається достовірне прискорення резорбції кісткової тканини, пов'язане з активацією остеокластів ( $2,96 \pm 1,26$  клітин на  $\text{мм}^2$  проти  $2,24 \pm 1,41$  клітин на  $\text{мм}^2$  контролю). Застосування препаратів стронцію достовірно уповільнює процеси резорбції кісткової тканини як за рахунок пригнічення функції остеокластів (їх кількість зменшувалась до  $2,24 \pm 1,41$  клітини на  $\text{мм}^2$ ,  $p > 0,05$ ), так і за рахунок активації остеобластів, що проявляється найбільш виразними процесами остеогенезу та найбільш інтенсивною експресією остеопонтину, як у трабекулярній, так і в компактній кістковій тканині.

5. Комплексне лікування генералізованого пародонтиту, доповнене препаратами стронцію ранелату, в хворих із цукровим діабетом 2 типу збільшує кількість випадків клініко-рентгенологічної стабілізації процесу в тканинах пародонта на 16,7%, сприяє підвищенню мінеральної щільності кісткової тканини ( $p < 0,05$ ), а також зменшує активність тартратрезистентної кислоти фосфатази в сироватці крові й концентрації фрагментів  $\beta$ -CrossLaps у сечі та збільшує концентрацію остеокальцину, С-кінцевого пропептиду у плазмі кров та кісткової лужної фосфатази у сироватці крові ( $p < 0,05$ ).

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У хворих на генералізований пародонтит, асоційований із компенсованою формою цукрового діабету 2 типу, при сприятливому кардіологічному анамнезі доповнювати остеотропну складову комплексного лікування генералізованого пародонтиту стронцієм ранелатом у дозі 2 г один раз на добу перорально перед сном, через 2 години після вживання їжі курсом 1 місяць.
2. В якості критеріїв ефективності остеотропного лікування у хворих на генералізований пародонтит на тлі цукрового діабету 2 типу слід застосовувати динаміку показників мінеральної щільності щелепних кісток за даними комп'ютерної томографії.
3. Для більш об'єктивної оцінки результатів остеотропного лікування в хворих на генералізований пародонтит на тлі цукрового діабету 2 типу доцільним є біохімічне дослідження, зокрема вивчення маркерів кісткової резорбції – активності тартратрезистентної кислоти фосфатази в сироватці крові та концентрації фрагментів  $\beta$ -CrossLaps у сечі, а також маркерів кісткового формування – концентрації остеокальцину та С-кінцевого пропептиду у плазмі крові, кісткової лужної фосфатази в сироватці крові.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Антомонов МЮ. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. Киев: Мединформ; 2017. 578 с.
2. Архипов АВ, Архипов ВД, Вырмаскин СИ, Архипов ВЯ, Афанасьев ВВ. Эффективность современных методов рентгенологического обследования в условиях стоматологической поликлиники. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014; 16 (5): 1364-1367.
3. Байрашева ВК. Моделирование сахарного диабета и диабетической нефропатии в эксперименте. Современные проблемы науки и образования. 2015; 4. doi:10.17513/spno.127-21024.
4. Балмасова ИП, Шестакова ИВ, Ющук НД. Современные методы лабораторной диагностики и биомаркеры инфекционно-воспалительных заболеваний полости рта на примере хронического пародонтита. Российская стоматология. 2013; 2: 35-41.
5. Бандрівський ЮЛ. Остеотропна терапія при лікуванні генералізованого пародонтиту. Вісник наукових досліджень. 2013; 2. doi: 10.11603/2415-8798.2013.2.5735.
6. Бойцанюк СІ, Островський ПЮ. Стан кісткової тканини у хворих на генералізований пародонтит за даними денситометричного обстеження. The Scientific Heritage. 2022; 91: 66-69. doi: 10.5281/zenodo.6695996.
7. Борисенко АВ, Антоненко МЮ, Сідельникова ЛФ. Практична пародонтологія. Київ: ТОВ «Доктор-Медіа»; 2011. 472 с.
8. Борисенко АВ, Куваєв ОС, Столяр ВГ, Мялківський КО. Дослідження ефективності протизапальної композиції та препарату «Тантум Верде» в комплексній терапії хворих на пародонтит. Сучасна стоматологія. 2020; 5: 22-24.
9. Булкина НВ, Ведяева АП, Савина ЕА. Коморбидность заболеваний пародонта и соматической патологии. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2012; 3: 110-115.

10. Виноградова ОМ, Шкребенюк РЮ. Диференційні методи лікування захворювань тканин пародонта на тлі цукрового діабету. Клінічна та експериментальна патологія. 2015; 1 (51): 205-208.
11. Возна ІВ, Самойленко АВ, Павлов СВ, Кокарь ОО. Оцінювання метаболізму кісткової тканини пацієнтів із генералізованим пародонтитом різного ступеня та впливом шкідливих виробничих чинників за вмістом у ротовій рідині білка Klotho. Запорожский медицинский журнал. 2021; 2 (125): 274-279. doi: 10.14739/2310-1210.2021.2.228787.
12. Германчук СМ, Омеляненко ОА. Зміни в альвеолярному паростку при гострій фазі модельованого цукрового діабету. Вестник проблем биологии и медицины. 2017; 2 (140): 208-211.
13. Глазунов ОА, Меладзе ІН, Глазунова СО. Особливості мікробіоценозу пародонтальних кишень та стан місцевого імунітету у хворих на генералізований пародонтит на фоні ожиріння, ускладненого метаболічним синдромом. Клінічна та експериментальна патологія. 2017; 1: 63-67.
14. Горб-Гаврильченко ІВ. Підвищення ефективності лікування генералізованого пародонтиту. Альманах науки. 2018; 3: 30-31.
15. Гударьян АА, Кучеренко ТА. Состояние костного метаболизма у больных с различными вариантами течения генерализованного пародонтита. Вісник проблем біології і медицини. 2020; 3 (157): 314-318. doi: 10.29254/2077-4214-2020-3-157-314-318.
16. Гударьян АА, Мащенко ІС, Шандыба СИ. Генерализованный пародонтит у больных сахарным диабетом 2 типа: тактика и особенности хирургического лечения. Lambert Academic Publishing; 2019. 157 с.
17. Гударьян АА. Этиотропная и патогенетическая терапия прогрессирующего генерализованного пародонтита на фоне сахарного диабета. Вісник стоматології. 2007; 1: 31-37.
18. Данилевський МФ, Борисенко АВ, Антоненко МЮ. Терапевтична стоматологія. Київ: ВСВ «Медицина»; 2018. Т. 3: Захворювання пародонта. 624 с.

19. Доменюк ДА, Давыдов БН, Гильмиярова ФН, Будаичиев ГМ, Иванюта ОО. Современные методы диагностики поражений костной ткани у детей с сахарным диабетом. Медицинский алфавит. 2018; 4 (34): 31-40.
20. Ивашенко СВ, Ваганов ЮВ, Томашёва АЮ. Денситометрическая оценка состояния костной ткани после воздействия низкочастотным ультразвуком в эксперименте с помощью компьютерной томографии. Медицинский журнал. 2008; 3: 90-92.
21. Камышников ВС. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. Москва: МЕДпресс-информ; 2009. 896 с.
22. Катеринюк ВО. Сучасний науковий погляд на оптимізацію лікування захворювань пародонта. Вісник Української стоматологічної медичної академії. 2021; 1 (73): 178-183. doi: 10.31718/2077-1096.21.1.178.
23. Ковалишин ХВ, Рожко ММ. Кальцій-фосфорний обмін та кістковий метаболізм при генералізованому пародонтиті, що перебігає на фоні ревматоїдного артрити у хворих, які проживають на екологічно несприятливих територіях. Вісник проблем біології і медицини. 2020; 3 (157): 326–331. doi: 10.29254/2077-4214-2020-3-157-326-331.
24. Кордияк ОИ, Масна ЗЗ, Грищук ГВ. Минеральный состав костной ткани альвеолярного отростка нижней челюсти у крыс при пародонтите. Здравоохранение. 2014; 6: 13-17.
25. Кузняк НБ, Бойцанюк СІ, Суховолець ІО. Використання біохімічних маркерів кісткового метаболізму в стоматології. Клінічна стоматологія. 2015; 1: 99-104.
26. Левицкий АП, Громов ОВ. Влияние алиментарного фактора и системных нарушений на костную ткань альвеолярного отростка нижней челюсти (экспериментальное исследование). Современная стоматология. 2010; 4: 153-156.
27. Левицкий АП, Макаренко ОА, Деньга ОВ. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза: метод. рекомендации. К.: ГФЦ; 2005. 50 с.
28. Малый ДЮ, Антоненко МЮ. Эпидемиология заболеваний пародонта: возрастные аспекты. Український науково-медичний молодіжний журнал. 2013; 4: 41-43.

29. Марков АВ. Регенеративні властивості стовбурових клітин кістки коміркового відростка при дистрофічно-запальних захворюваннях пародонта. Вісник проблем біології і медицини. 2016; 2 (1): 252-255.
30. Матвеєнко ЛМ, Матвеєнко РЮ. Експериментальне обґрунтування застосування препаратів стронцію при лікуванні генералізованого пародонтиту на тлі цукрового діабету другого типу. Мат. наук.-практ.конф. з міжнародн. участю «Інноваційні технології в сучасній стоматології». Україна, Івано-Франківськ. 2021. С.102-104.
31. Матвеєнко ЛМ. Мінеральні щільність та хімічний склад нижньощелепних кісток щурів в експериментальних моделях генералізованого пародонтиту. Медичні перспективи. 2022; 27 (2): 16-22. doi: 10.26641/2307-0404.2022.2.260058.
32. Матвеєнко ЛМ. Результати вивчення мінерального складу нижньощелепних кісток щурів при експериментальному пародонтиті. Мат. ХХІ наук. конф. студентів та молодих вчених «Новини і перспективи медичної науки». Україна, Дніпро. 2021. С. 87.
33. Матвеєнко ЛМ. Щодо проблеми створення експериментальної моделі пародонтиту. 3б. наук. праць V міжнародн. наук.-практ. конф. «Стоматологія Придніпров'я». Україна, Дніпропетровськ-Запоріжжя. 2019. С.121-123.
34. Машковский МД. Лекарственные средства. М.: Медицина, 1993. Т. 2: 229-231.
35. Мащенко ИС, Гударьян АА, Дорогина АС. Причины устойчивости основных пародонтальных возбудителей к антибактериальной терапии у больных с быстро прогрессирующим генерализованным пародонтитом. Вісник стоматології. 2013; 4: 35-41.
36. Мащенко ИС. Болезни пародонта. Дрогобич: Коло; 2008. 272 с.
37. Мащенко ИС, Гудар'ян ОО, Кучеренко ТО. Клінічні, імунологічні та метаболічні особливості загостреного і швидко прогресуючого варіантів генералізованого пародонтиту. Сучасна стоматологія. 2020; 4: 26-32. doi: 10.33295/1992-576X-2020-4-26.

38. Меладзе ИН. Воспалительно-деструктивные изменения в тканях пародонта крыс при экспериментальном метаболическом синдроме и пути их устранения. Современная стоматология. 2016; 4: 73-75.
39. Михальченко ДВ, Маслак ЕЕ, Наумова ВН, Данилина ТФ, Бадрак ЕЮ. Взаимосвязь сахарного диабета с заболеваниями полости рта: что знают об этом врачи-стоматологи и их пациенты? Волгоградский научно-медицинский журнал. 2013; 2: 51-53.
40. Наумова ВН, Маслак ЕЕ. Сахарный диабет и стоматологическое здоровье: проблемы диагностики и лечения пациентов стоматологических клиник. Практическая медицина. 2013; 4 (72): 10-14.
41. Николаева АВ, Ткаченко ЕК, Бреус ВЕ. Цитоморфологічне дослідження впливу препарату поліфенолів трави *Hypericum perforatum* L. на стан слизової оболонки щоки щурів в умовах моделювання пародонтиту. Інновації в стоматології. 2013; 2: 2-4.
42. Новицкая ИК, Терешина ТП, Димчева ТИ, Бабеня АА, Мозговая НВ. Распространенность и интенсивность стоматологической патологии у больных сахарным диабетом. Инновации в стоматологии. 2014; 1 (3): 11-13.
43. Патент РФ на корисну модель № 2 252 009 С 2 А 61 К 6/06, G 09 В 23/28. Способ получения модели пародонтита / Буранбаев РЗ, Мирсаяпов РА, Зарипова ЮШ. № 2003102344/14; заявл. 27.01.2003; опубл. 27.07.2004, Бюл. № 14.
44. Патент України на корисну модель № 67897 А 61 Р 31/00. Спосіб моделювання пародонтиту з ураженням сполучної тканини пародонта / Ткаченко ЄК, Косенко КМ, Новосельська НГ, Мокшина ОГ. № 2011 09537; заявл. 29.07.2011; опубл. 12.03.2012, Бюл. № 5.
45. Патент України на корисну модель № 138066 G 09 В 23/28, А 61 Р 31/00, А 61 К 6/06. Спосіб моделювання пародонтиту з ураженням сполучної тканини пародонта / Матвєєнко ЛМ, Самойленко АВ, Жилюк ВІ, Матвєєнко РЮ, Харченко ЮВ. № 2019 01329; заявл. 11.02.2019; опубл. 25.11.2019, Бюл. № 22.

46. Проць ГБ, Пюрик ВП, Солоджук ЮІ. Оцінка показників маркерів кісткового ремоделювання в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту. Галицький лікарський вісник. 2016; 23 (3): 34-37.
47. Рожко ММ, Пантус АВ, Ярмошук ІР, Когут ВЛ. Особливості порушення мінеральної щільності кісткової тканини у хворих на генералізований пародонтит з остеопенією. Вісник проблем біології і медицини. 2018; 2 (147): 340-343. doi: 10.29254/2077-4214-2018-4-2-147-340-343.
48. Ронь ГИ, Уварова ЛВ, Еловикова ТМ. Опыт синхронной визуализации минеральной плотности нижней челюсти больного пародонтитом на трехмерной реконструкции. Проблемы стоматологии. 2015; 1: 15-19.
49. Самойленко АВ, Дрок ВО. Моделювання ортодонтичного лікування на тлі прогресуючого пародонтиту. Сучасна стоматологія. 2018; 1: 84-85.
50. Самойленко АВ, Матвеєнко ЛМ. Результати клінічної апробації комплексного лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням препаратів стронцію у хворих на цукровий діабет 2 типу. Український стоматологічний альманах. 2021; 3: 37-43.
51. Скиба АВ, Терешина ТП. Диабет и заболевания пародонта. Инновации в стоматологии. 2014; 1 (3): 51-57.
52. Спасов АА, Воронкова МП, Снигур ГЛ, Чепляева НИ, Чепурнова МВ. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2. Биомедицина. 2011; 3: 12-18.
53. Трухан ДИ, Трухан ЛЮ. Некоторые аспекты коморбидности пародонтита и сердечно-сосудистых заболеваний. Медицинский совет. 2015; 17: 12-16.
54. Турсунов ММ, Джумабаева СЭ, Сайфутдинова РШ, Ниезова ЯМ, Ганиева ИУ. Коморбидность сахарного диабета 2-го типа и ее виды. Молодой ученый. 2016; 10: 540-542.
55. Удод ОА, Куліш АС. Сучасні погляди на особливості стоматологічного статусу та стану ротової рідини у хворих на цукровий діабет. Вісник проблем біології і медицини. 2017; 1: 63-68.
56. Худякова МБ, Соколова ІІ. Бірюкова ММ. Місцева та загальна фармакотерапія запальних захворювань пародонта. Харків: ХНМУ. 85 с.

57. Чибисова МА, Орехова ЛЮ, Серова НВ. Особенности методики диагностического обследования пациентов с заболеваниями пародонта на конусно-лучевом компьютерном томографе. Институт стоматологии. 2014; 1 (62): 84-87.
58. Шкребнюк РЮ, Дирик ВТ, Виноградова ОМ, Шевчук ММ, Боднарук НІ, Лесько ЛГ. Динаміка параклінічних індексів у результаті комплексного лікування генералізованого пародонтиту у хворих на цукровий діабет I типу з кардіоміопатією. Український журнал медицини, біології та спорту. 2022; 3(37): 225-230. doi: 10.26693/jmbs07.03.225.
59. Ярмошук ІР, Рожко ММ, Пелехан ЛІ. Сучасні підходи до комплексного лікування хворих на генералізований пародонтит з остеопенією. Галицький лікарський вісник. 2016; 4 (23): 54-57.
60. Acharya AB, Thakur S, Muddapur MV, Kulkarni RD. Cytokine ratios in chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus. Diabetes Metab Syndr. 2017; 11 (4): 277-278. doi: 10.1016/j.dsx.2016.12.007.
61. Acharya AB, Thakur S, Muddapur MV, Kulkarni RD. Systemic cytokines in type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis. Curr Diabetes Rev. 2018; 14 (2): 182-188. doi: 10.2174/1573399812666161220144011.
62. Adachi K, Miyajima SI, Nakamura N, Miyabe M, Kobayashi Y, Nishikawa T, Suzuki Y, Kikuchi T, Kobayashi S, Saiki T, Mizutani M, Ohno N, Noguchi T, Mitani A, Matsubara T, Naruse K. Role of poly(ADP-ribose) polymerase activation in the pathogenesis of periodontitis in diabetes. J Clin Periodontol. 2017; 44 (10): 971-980. doi: 10.1111/jcpe.12758.
63. Adegboye AR, Boucher BJ, Kongstad J, Fiehn NE, Christensen LB, Heitmann BL. Calcium, vitamin D, casein and whey protein intakes and periodontitis among Danish adults. Public Health Nutr. 2016; 19: 503–510. doi: 10.1017/S1368980015001202.
64. Aemaimanan P, Amimanan P, Taweekaisupapong S. Quantification of key periodontal pathogens in insulin-dependent type 2 diabetic and non-diabetic patients with generalized chronic periodontitis. Anaerobe. 2013; 22: 64–68. doi: 10.1016/j.anaerobe.2013.06.010.

65. Agrafioti P, Morin-Baxter J, Tanagala KKK, Dubey S, Sims P, Lalla E, Momen-Heravi F. Decoding the role of macrophages in periodontitis and type 2 diabetes using single-cell RNA-sequencing. *FASEB J.* 2022; 36 (2): e22136. doi: 10.1096/fj.202101198R.
66. Agrawal AA, Kolte AP, Kolte RA, Chari S, Gupta M, Pakhmode R. Evaluation and comparison of serum vitamin D and calcium levels in periodontally healthy, chronic gingivitis and chronic periodontitis in patients with and without diabetes mellitus - a cross-sectional study. *Acta Odontol Scand.* 2019; 77 (8): 592-599. doi: 10.1080/00016357.2019.1623910.
67. Akazawa H. Periodontitis and diabetes mellitus: be true to your teeth. *Int Heart J.* 2018; 59: 680–682. doi: 10.1536/ihj.18-410.
68. Akram Z, Alqahtani F, Alqahtani M, Al-Kheraif AA, Javed F. Levels of advanced glycation end products in gingival crevicular fluid of chronic periodontitis patients with and without type-2 diabetes mellitus. *J Periodontol.* 2020; 91 (3): 396-402. doi: 10.1002/JPER.19-0209.
69. Al Amri MD, Kellesarian SV, Al-Kheraif AA, Malmstrom H, Javed F, Romanos GE. Effect of oral hygiene maintenance on HbA1c levels and periimplant parameters around immediately-loaded dental implants placed in type-2 diabetic patients: 2 years follow-up. *Clin Oral Implants Res.* 2016; 27: 1439–1443. doi: 10.1111/clr.12758.
70. Alasqah M, Mokeem S, Alrahlah A, Al-Hamoudi N, Abduljabbar T, Akram Z, Vohra F, Javed F. Periodontal parameters in prediabetes, type 2 diabetes mellitus, and non-diabetic patients. *Braz Oral Res.* 2018; 32: e81. doi: 10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0081.
71. Algate K, Haynes DR, Bartold PM, Crotti TN, Cantley MD. The effects of tumour necrosis factor-alpha on bone cells involved in periodontal alveolar bone loss; osteoclasts, osteoblasts and osteocytes. *J Periodontal Res.* 2016; 51: 549–566. doi: 10.1111/jre.12339.
72. Almubarak A, Tanagala KKK, Papapanou PN, Lalla E, Momen-Heravi F. Disruption of monocyte and macrophage homeostasis in periodontitis. *Front Immunol.* 2020; 11: 330. doi: 10.3389/fimmu.2020.00330.

73. Alshihayb TS, Kaye EA, Zhao Y, Leone CW, Heaton B. A quantitative bias analysis to assess the impact of unmeasured confounding on associations between diabetes and periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2021; 48 (1): 51-60. doi: 10.1111/jcpe.13386.
74. Alshouibi EN, Kaye EK, Cabral HJ, Leone CW, Garcia RI. Vitamin D and periodontal health in older men. *J Dent Res.* 2013; 92: 689–693. doi: 10.1177/0022034513495239.
75. Al-Timimi DJ, Ali AF. Serum 25(OH) D in diabetes mellitus type 2: relation to glycaemic control. *J Clin Diagn Res.* 2013; 7: 2686–2688. doi: 10.7860/JCDR/2013/6712.3733.
76. Al-Zahrani S, Al-Mutairi AA. Crestal bone loss around submerged and non-submerged dental implants in individuals with type-2 diabetes mellitus: a 7-year prospective clinical study. *Med Principles Prac.* 2019; 28: 75–81. doi: 10.1159/000495111.
77. Andriankaja OM, Barros SP, Moss K, Panagakos FS, DeVizio W, Beck J. Levels of serum interleukin (IL)-6 and gingival crevicular fluid of IL-1 $\beta$  and prostaglandin E(2) among non-smoking subjects with gingivitis and type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2009; 80: 307–316. doi: 10.1902/jop.2009.080385.
78. Annibali S, Pranno N, Cristalli MP, La Monaca G, Polimeni A. Survival analysis of implant in patients with diabetes mellitus: a systematic review. *Implant Dentistr.* 2016; 25: 663–674. doi: 10.1097/ID.0000000000000478.
79. Antonoglou G, Knuuttila M, Nieminen P, Vainio O, Hiltunen L, Raunio T. Serum osteoprotegerin and periodontal destruction in subjects with diabetes mellitus. *J Clin Periodontol.* 2013; 40: 765–770. doi: 10.1111/jcpe.12129.
80. Ao T, Kikuta J, Ishii M. Update on recent progress in vitamin D research. Effect vitamin D in autoinflammatory diseases. *Clin Calc.* 2017; 27: 1551–1559.
81. Aral CA, Kesim S, Greenwell H, Kara M, Çetin A, Yakan B. Alveolar bone protective and hypoglycemic effects of systemic propolis treatment in experimental periodontitis and diabetes mellitus. *J Med Food.* 2015; 18 (2): 195-201. doi: 10.1089/jmf.2013.3137.

82. Araujo AA, Pereira A, Medeiros C, Brito GAC, Leitaó RFC, Araujo LS. Effects of metformin on inflammation, oxidative stress, and bone loss in a rat model of periodontitis. *PLoS ONE*. 2017; 12: e0183506. doi: 10.1371/journal.pone.0183506.
83. Arepalli SK, Tripathi H, Hira SK, Manna PP, Pyare R, S P Singh. Enhanced bioactivity, biocompatibility and mechanical behavior of strontium substituted bioactive glasses. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016; 69: 108-116. doi: 10.1016/j.msec.2016.06.070.
84. Ateeq H, Zia A, Husain Q, Khan MS, Ahmad M. Effect of inflammation on bones in diabetic patients with periodontitis via RANKL/OPG system-A review. *J Diabetes Metab Disord*. 2022; 21 (1): 1003-1009. doi: 10.1007/s40200-021-00960-7.
85. Atkins GJ, Welldon KJ, Halbout P, Findlay DM. Strontium ranelate treatment of human primary osteoblasts promotes an osteocyte-like phenotype while eliciting an osteoprotegerin response. *Osteoporosis International*. 2009; 20 (4): 653–664. doi: 10.1007/s00198-008-0728-6.
86. Babaev EA, Balmasova IP, Mkrtumyan AM, Kostryukova SN, Vakhitova ES, Il'ina EN, Tsarev VN, Gabibov AG, Arutyunov SD. Metagenomic analysis of gingival sulcus microbiota and pathogenesis of periodontitis associated with type 2 diabetes mellitus. *Bull Exp Biol Med*. 2017; 163: 718–721. doi: 10.1007/s10517-017-3888-6.
87. Badiger AB, Gowda TM, Chandra K, Mehta DS. Bilateral interrelationship of diabetes and periodontium. *Curr Diabetes Rev*. 2019; 15 (5): 357-362. doi: 10.2174/1573399815666190115144534.
88. Baeza M, Morales A, Cisterna C, Cavalla F, Jara G, Isamitt Y, Pino P, Gamonal J. Effect of periodontal treatment in patients with periodontitis and diabetes: systematic review and meta-analysis. *J Appl Oral Sci*. 2020; 28: e20190248. doi: 10.1590/1678-7757-2019-0248.
89. Bakshi D, Kaur G, Singh D, Sahota J, Thakur A, Grover S. Estimation of plasma levels of tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-4 and 6 in patients with chronic periodontitis and type II diabetes mellitus. *J Contemp Dent Pract*. 2018; 19 (2): 166-169. doi: 10.5005/jp-journals-10024-2231.

90. Balci Yuce H, Akbulut N, Ocakli S, Kayir O, Elmastas M. The effect of commercial conjugated linoleic acid products on experimental periodontitis and diabetes mellitus in Wistar rats. *Acta Odontol Scand.* 2017; 75 (1): 21-29. doi: 10.1080/00016357.2016.1244355.
91. Balci Yuce H, Karatas O, Aydemir Turkal H, Pirim Gorgun E, Ocakli S, Benli I, Cayli S. The effect of melatonin on bone loss, diabetic control, and apoptosis in rats with diabetes with ligature-induced periodontitis. *J Periodontol.* 2016; 87 (4): 35-43. doi: 10.1902/jop.2015.150315.
92. Balci Yuce H, Toker H, Goze F. The histopathological and morphometric investigation of the effects of systemically administered boric acid on alveolar bone loss in ligature-induced periodontitis in diabetic rats. *Acta Odontol Scand.* 2014; 72 (8): 729-736. doi: 10.3109/00016357.2014.898789.
93. Balmasova IP, Tsarev VN, Unanyan KG, Ippolitov EV, Tsareva TV, Kharakh YN, Akhmedov GD, Stepanova SY, Katkov II, Arutyunov SD. Diagnostic value of microbiome biomarkers of the periodonite microbiome in patients with the association of chronic periodontitis and diabetes mellitus type 2. *Klin Lab Diagn.* 2021; 66 (11): 678-683. doi: 10.51620/0869-2084-2021-66-11-678-683.
94. Bao L, Chen M, Lei Y, Zhou Z, Shen H, Le F. Association between vitamin D receptor BsmI polymorphismand bone mineral density in pediatric patients: a meta-analysis and systematic review of observational studies. *Medicine.* 2017; 96: e6718. doi: 10.1097/MD.00000000000006718.
95. Barbara A., Delannoy P., Denis B. G., Marie P. J. Normal matrix mineralization induced by strontium ranelate in MC3T3-E1 osteogenic cells. *Metabolism.* 2004; 53 (4): 532–537. doi: 10.1016/j.metabol.2003.10.022.
96. Bascones-Martínez A, Muñoz-Corcuera M, Bascones-Ilundain J. Diabetes y periodontitis: una relación bidireccional [Diabetes and periodontitis: A bidirectional relationship]. *Med Clin (Barc).* 2015; 145 (1): 31-35. Spanish. doi: 10.1016/j.medcli.2014.07.019.
97. Bastos MF, Tucci MA, de Siqueira A, de Faveri M, Figueiredo LC, Vallim PC. Diabetes may affect the expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors more

- than smoking in chronic periodontitis. *J Periodon Res.* 2017; 52: 292–299. doi: 10.1111/jre.12394.
98. Bendek MJ, Canedo-Marroquín G, Realini O, Retamal IN, Hernández M, Hoare A, Busso D, Monteiro LJ, Illanes SE, Chaparro A. Periodontitis and gestational diabetes mellitus: a potential inflammatory vicious cycle. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (21): 11831. doi: 10.3390/ijms222111831.
  99. Bian Y, Liu C, Fu Z. Application value of combination therapy of periodontal curettage and root planing on moderate-to-severe chronic periodontitis in patients with type 2 diabetes. *Head Face Med.* 2021; 17 (1): 12. doi: 10.1186/s13005-020-00253-z.
  100. Biloklytska GF, Viala SY. Resources to improve the effectiveness of periodontal treatment in patients with diabetes mellitus. *Wiad Lek.* 2021; 74 (3 p 2): 702-707. doi: 10.36740/WLek202103225.
  101. Bissett SM, Preshaw PM, Presseau J, Rapley T. A qualitative study exploring strategies to improve the inter-professional management of diabetes and periodontitis. *Prim Care Diabetes.* 2020; 14 (2): 126-132. doi: 10.1016/j.pcd.2019.11.010.
  102. Boggess KA, Espinola JA, Moss K, Beck J, Offenbacher S, Camargo CA Jr. Vitamin D status and periodontal disease among pregnant women. *J Periodontol.* 2011; 82: 195–200. doi: 10.1902/jop.2010.100384.
  103. Bonnelye E, Chabadel A, Saltel F, Jurdic P. Dual effect of strontium ranelate: stimulation of osteoblast differentiation and inhibition of osteoclast formation and resorption in vitro. *Bone.* 2008; 42 (1): 129–138. doi: 10.1016/j.bone.2007.08.043.
  104. Borciani G, Ciapetti G, Vitale-Brovarone C, Baldini N. Strontium functionalization of biomaterials for bone tissue engineering purposes: A biological point of view. *Materials (Basel).* 2022; 15 (5): 1724. doi: 10.3390/ma15051724.
  105. Borg SA, Buckley H, Owen R, Marin AC, Lu Y, Eyles D. Early life vitamin D depletion alters the postnatal response to skeletal loading in growing and mature bone. *PLoS ONE.* 2018; 13: e0190675. doi: 10.1371/journal.pone.0190675.
  106. Brennan TC, Rybchyn MS, Green W, Atwa S, Conigrave AD, Mason RS. Osteoblasts play key roles in the mechanisms of action of strontium ranelate. *British*

Journal of Pharmacology. 2009; 157 (7): 1291–1300. doi: 10.1111/j.1476-5381.2009.00305.x.

107. Bruyere O, Roux C, Detilleux J. Relationship between bone mineral density changes and fracture risk reduction in patients treated with strontium ranelate. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2007; 92 (8): 3076–3081. doi: 10.1210/jc.2006-2758.

108. Bueno CRE, Sumida DH, Duarte MAH, Ordinola-Zapata R, Azuma MM, Guimarães G, Pinheiro TN, Cintra LTA. Accuracy of radiographic pixel linear analysis in detecting bone loss in periodontal disease: Study in diabetic rats. *Saudi Dent J*. 2021; 33 (8): 987-996. doi: 10.1016/j.sdentj.2021.07.004.

109. Bui FQ, Almeida-da-Silva CLC, Huynh B, Trinh A, Liu J, Woodward J, Asadi H, Ojcius DM. Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomed J*. 2019; 42 (1): 27-35. doi: 10.1016/j.bj.2018.12.001.

110. Canalis E, Hott M, Deloffre P, Tsouderos Y, Marie PJ. The divalent strontium salt S12911 enhances bone cell replication and bone formation in vitro. *Bone*. 1996; 18 (6): 517–523. doi: 10.1016/8756-3282(96)00080-4.

111. Cao R, Li Q, Wu Q, Yao M, Chen Y, Zhou H. Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and Bayesian network meta-analysis. *BMC Oral Health*. 2019; 19(1): 176. doi: 10.1186/s12903-019-0829-y.

112. Cao X. Targeting osteoclast-osteoblast communication. *Nat Med*. 2011; 17: 1344–1346. doi: 10.1038/nm.2499.

113. Casanova L, Hughes FJ, Preshaw PM. Diabetes and periodontal disease: a two-way relationship. *Br Dental J*. 2014; 217: 433–437. doi: 10.1038/sj.bdj.2014.907.

114. Castrillon CA, Hincapie JP, Yepes FL, Roldan N, Moreno SM, Contreras A. Occurrence of red complex microorganisms and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in patients with diabetes. *J Investig Clin Dent*. 2015; 6: 25–31. doi: 10.1111/jicd.12051.

115. Chapple IL, Genco R. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on periodontitis and systemic diseases. *J Clin Periodontol*. 2013; 40 Suppl 14: 106-112. doi:10.1111/jcpe.12077.

116. Chen H, Fu T, Ma Y, Wu X, Li X, Li X, Shen J, Wang H. Intermittent administration of parathyroid hormone ameliorated alveolar bone loss in experimental periodontitis in streptozotocin-induced diabetic rats. *Arch Oral Biol.* 2017; 83: 76-84. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.06.033.
117. Chiu HC, Fu MM, Yang TS, Fu E, Chiang CY, Tu HP. Effect of high glucose, *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide and advanced glycation end-products on production of interleukin-6/-8 by gingival fibroblasts. *J Periodont Res.* 2017; 52: 268–276. doi: 10.1111/jre.12391.
118. Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW. IDF Diabetes atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabet Res Clin Prac.* 2018; 138: 271–281. doi: 10.1016/j.diabres.2018.02.023.
119. Chopra A, Jayasinghe TN, Eberhard J. Are inflamed periodontal tissues endogenous source of advanced glycation end-products (AGEs) in individuals with and without diabetes mellitus? A systematic review. *Biomolecules.* 2022; 12 (5): 642. doi: 10.3390/biom12050642.
120. Chou HH, Lu SL, Wang ST, Huang TH, Chen SL. The association between bone mineral density and periodontal disease in middle-aged adults. *Int J Environ Res Public Health.* 2021; 18 (6): 3321. doi: 10.3390/ijerph18063321.
121. Choubaya C, Chahine N, Aoun G, Anil S, Zalloua P, Salameh Z. Expression of inflammatory mediators in periodontitis over established diabetes: an experimental study in rats. *Med Arch.* 2021; 75 (6): 436-443. doi: 10.5455/medarh.2021.75.436-443.
122. Choudhary S, Halbout P, Alander C, Raisz L, Pilbeam C. Strontium ranelate promotes osteoblastic differentiation and mineralization of murine bone marrow stromal cells: Involvement of prostaglandins. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2007; 22 (7): 1002–1010. doi: 10.1359/jbmr.070321.
123. Cirano FR, Molez AM, Ribeiro FV, Tenenbaum HC, Casati MZ, Corrêa MG, Pimentel SP. Resveratrol and insulin association reduced alveolar bone loss and produced an antioxidant effect in diabetic rats. *J Periodontol.* 2021; 92 (5): 748-759. doi: 10.1002/JPER.19-0718.

124. Cirelli T, Nepomuceno R, Rios ACS, Orrico SRP, Cirelli JA, Theodoro LH, Barros SP, Scarel-Caminaga RM. Genetic polymorphisms in the Interleukins IL1B, IL4, and IL6 are associated with concomitant periodontitis and type 2 diabetes mellitus in Brazilian patients. *J Periodontal Res.* 2020; 55 (6): 918-930. doi: 10.1111/jre.12784.
125. Colombo JS, Balani D, Sloan AJ, Crean SJ, Okazaki J, Waddington RJ. Delayed osteoblast differentiation and altered inflammatory response around implants placed in incisor sockets of type 2 diabetic rats. *Clin Oral Implants Res.* 2011; 22: 578–586. doi: 10.1111/j.1600-0501.2010.01992.x.
126. Cui X, Monacelli E, Killeen AC, Samson K, Reinhardt RA. Impact of modifiable risk factors on bone loss during periodontal maintenance. *Operative Dentistr.* 2019; 44: 254–261. doi: 10.2341/18-041-C.
127. Dahl SG, Allain P, Marie PJ. Incorporation and distribution of strontium in bone. *Bone.* 2001; 28 (4): 446–453. doi: 10.1016/S8756-3282(01)00419-7.
128. Daigang L, Jining Q, Jinlai L, Pengfei W, Chuan S, Liangku H. LPS-stimulated inflammation inhibits BMP-9-induced osteoblastic differentiation through crosstalk between BMP/MAPK and Smad signaling. *Exp Cell Res.* 2016; 341: 54–60. doi: 10.1016/j.yexcr.2016.01.009.
129. D'Aiuto F, Gkrantias N, Bhowruth D, Khan T, Orlandi M, Suvan J, Masi S, Tsakos G, Hurel S, Hingorani AD, Donos N, Deanfield JE; TASTE Group. Systemic effects of periodontitis treatment in patients with type 2 diabetes: a 12 month, single-centre, investigator-masked, randomised trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018; 6 (12): 954-965. doi: 10.1016/S2213-8587(18)30038-X.
130. de O Silva V, Lobato RV, Andrade EF, Orlando DR, Borges BDB, Zangeronimo MG, de Sousa RV, Pereira LJ. Effects of  $\beta$ -glucans ingestion on alveolar bone loss, intestinal morphology, systemic inflammatory profile, and pancreatic  $\beta$ -Cell function in rats with periodontitis and diabetes. *Nutrients.* 2017; 9 (9): 1016. doi: 10.3390/nu9091016.
131. de Oliveira Diniz CK, Corrêa MG, Casati MZ, Nociti FH Jr, Ruiz KG, Bovi Ambrosano GM, Sallum EA. Diabetes mellitus may increase bone loss after occlusal trauma and experimental periodontitis. *J Periodontol.* 2012; 83 (10): 1297-303. doi: 10.1902/jop.2012.110514.

132. Diehl D, Friedmann A. Parodontitis und diabetes – assoziation zweier molkskrankheiten [Periodontitis and diabetes – two common and associated diseases]. *MMW Fortschr Med.* 2022; 164 (12): 52-59. German. doi: 10.1007/s15006-022-1136-0.
133. Dienelt RP, zur Nieden NI. Hyperglycemia impairs skeletogenesis from embryonic stem cells by affecting osteoblast and osteoclast differentiation. *Stem Cells Dev.* 2011; 20: 465–474. doi: 10.1089/scd.2010.0205.
134. Elburki MS, Rossa C Jr, Guimarães-Stabili MR, Lee HM, Curylofo-Zotti FA, Johnson F, Golub LM. A Chemically modified curcumin (CMC 2.24) inhibits nuclear factor  $\kappa$ B activation and inflammatory bone loss in murine models of LPS-induced experimental periodontitis and diabetes-associated natural periodontitis. *Inflammation.* 2017; 40 (4): 1436-1449. doi: 10.1007/s10753-017-0587-4.
135. Engebretson S, Kocher T. Evidence that periodontal treatment improves diabetes outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol.* 2013; 84: 153–169. doi: 10.1902/jop.2013.1340017.
136. Eskow CC, Oates TW. Dental implant survival and complication rate over 2 years for individuals with poorly controlled type 2 diabetes mellitus. *Clin Implant Dentistr Relat Res.* 2017; 19: 423–431. doi: 10.1111/cid.12465
137. Farr JN, Khosla S. Determinants of bone strength and quality in diabetes mellitus in humans. *Bone.* 2016; 82: 28–34. doi: 10.1016/j.bone.2015.07.027.
138. Fastovets OO, Masheiko IV, Lukash AY. Evaluation of bone resorptive potential in the treatment of generalized periodontitis. *Wiadomosci Lekarskie.* 2020; 73 (11): 2396-2402. doi: 10.36740/WLek202011112.
139. Fischer RG, Lira Junior R, Retamal-Valdes B, Figueiredo LC, Malheiros Z, Stewart B, Feres M. Periodontal disease and its impact on general health in Latin America. Section V: Treatment of periodontitis. *Braz Oral Res.* 2020; 34 (suppl 1): e026. doi: 10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0026.
140. Flores-Tochihuitl J, Márquez Villegas B, Peral Lemus AC, Andraca Hernández CJ, Flores G, Morales-Medina JC. Periodontitis and diabetes reshape neuronal dendritic arborization in the thalamus and nucleus oralis in the rat. *Synapse.* 2021; 75 (3): e22187. doi: 10.1002/syn.22187.

141. Fondjo LA, Sakyi SA, Owiredu W, Laing EF, Owiredu EW, Awusi EK. Evaluating vitamin D status in pre- and postmenopausal type 2 diabetics and its association with glucose homeostasis. *BioMed Res Int.* 2018; 9369282. doi: 10.1155/2018/9369282.
142. Gabbay KH, Sosenko JM, Banuchi GA, Mininsohn MJ, Flückiger R. Glycosylated hemoglobins: increased glycosylation of hemoglobin A in diabetic patients. *Diabetes.* 1979;28(4):337-340. doi: 10.2337/diab.28.4.337
143. Gao J, Cheng Y, Hao H, Yin Y, Xue J, Zhang Q. Decitabine assists umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in improving glucose homeostasis by modulating macrophage polarization in type 2 diabetic mice. *Stem cell Res Ther.* 2019; 10: 259. doi: 10.1186/s13287-019-1338-2.
144. Garcia MN, Hildebolt CF, Miley DD, Dixon DA, Couture RA, Spearie CL. One-year effects of vitamin D and calcium supplementation on chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2011; 82: 25–32. doi: 10.1902/jop.2010.100207.
145. Garcia-Hernandez A, Arzate H, Gil-Chavarria I, Rojo R, Moreno-Fierros L. High glucose concentrations alter the biomineralization process in human osteoblastic cells. *Bone.* 2012; 50: 276–288. doi: 10.1016/j.bone.2011.10.032.
146. Ge LH, Wang NJ, Xia YR, Zhang ZY, Lu YL, Shu R. [Preliminary study on the relationship between different blood glucose levels and periodontitis in patients with diabetes mellitus type 2]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2021; 56 (6): 517-524. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.cn112144-20210128-00045.
147. Genco RJ, Borgnakke WS. Diabetes as a potential risk for periodontitis: association studies. *Periodontol 2000.* 2020; 83 (1): 40-45. doi: 10.1111/prd.12270.
148. Gielen E, O'Neill T, Pye S, Adams J, Ward K, Wu F. Bone turnover markers predict hip bone loss in elderly European men: results of the European male ageing study (EMAS). *Osteoporosis Int.* 2015; 26: 617–627. doi: 10.1007/s00198-014-2884-1.
149. Glajchen N, Epstein S, Chakrabarti S. Bone mineral metabolism in experimental diabetes mellitus: osteocalcin as a measure of bone remodeling. *Endocrinology.* 1988; 123 (1): 290-295.
150. Goh G, Ower P, Eaton K. The prevalence of potentially undiagnosed type II diabetes in patients with chronic periodontitis attending a general dental practice in

- London - a feasibility study. *Br Dent J.* 2021; 231 (3): 180-186. doi: 10.1038/s41415-021-3223-5.
151. Gomes-Filho IS, Balinha IDSCE, da Cruz SS, Trindade SC, Cerqueira EMM, Passos-Soares JS, Coelho JMF, Ladeia AMT, Vianna MIP, Hintz AM, de Santana TC, Dos Santos PP, Figueiredo ACMG, da Silva ICO, Scannapieco FA, Barreto ML, Loomer PM. Moderate and severe periodontitis are positively associated with metabolic syndrome. *Clin Oral Investig.* 2021; 25 (6): 3719-3727. doi: 10.1007/s00784-020-03699-2.
152. Grabowski P. Physiology of bone. *Endocr Dev.* 2009; 16: 32–48. doi: 10.1159/000223687.
153. Graves DT, Corrêa JD, Silva TA. The oral microbiota is modified by systemic diseases. *J Dent Res.* 2019; 98 (2): 148-156. doi: 10.1177/0022034518805739.
154. Graves DT, Ding Z, Yang Y. The impact of diabetes on periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2020; 82 (1): 214-224. doi: 10.1111/prd.12318.
155. Graziani F, Gennai S, Solini A, Petrini M. A systematic review and meta-analysis of epidemiologic observational evidence on the effect of periodontitis on diabetes An update of the EFP-AAP review. *J Clin Periodontol.* 2018; 45 (2): 167-187. doi: 10.1111/jcpe.12837.
156. Greenblatt AP, Salazar CR, Northridge ME, Kaplan RC, Taylor GW, Finlayson TL. Association of diabetes with tooth loss in hispanic/latino adults: findings from the hispanic community health study/study of latinos. *BMJ Open Diabet Res Care.* 2016; 4: e000211. doi: 10.1136/bmjdrc-2016-000211.
157. Grigoriadis A, Räisänen IT, Pärnänen P, Tervahartiala T, Sorsa T, Sakellari D. Prediabetes/diabetes screening strategy at the periodontal clinic. *Clin Exp Dent Res.* 2021; 7 (1): 85-92. doi: 10.1002/cre2.338.
158. Grover HS, Luthra S. Molecular mechanisms involved in the bidirectional relationship between diabetes mellitus and periodontal disease. *J Indian Soc Periodontol.* 2013; 17 (3): 292-301. doi: 10.4103/0972-124X.115642.
159. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabet Res Clin Prac.* 2014; 103: 137–149. doi: 10.1016/j.diabres.2013.11.002.

160. Gulsahi A, Paksoy CS, Ozden S, Kucuk NO, Cebeci ARI, Genc Y. Assessment of bone mineral density in the jaws and its relationship to radiomorphometric indices. *Dentomaxillofacial Radiology*. 2010; 39: 284–289.
161. Haq A, Svobodova J, Imran S, Stanford C, Razzaque MS. Vitamin D deficiency: A single centre analysis of patients from 136 countries. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2016; 164: 209–213. doi: 10.1016/j.jsbmb.2016.02.007.
162. Harris SS, Pittas AG, Palermo NJ. A randomized, placebo-controlled trial of vitamin D supplementation to improve glycaemia in overweight and obese African Americans. *Diabet Obes Metabol*. 2012; 14: 789–794. doi: 10.1111/j.1463-1326.2012.01605.x/
163. Hassani A, Avci ÇB, Kerdar SN, Amini H, Amini M, Ahmadi M, Sakai S, Bagca BG, Ozates NP, Rahbarghazi R, Khoshfetrat AB. Interaction of alginate with nano-hydroxyapatite-collagen using strontium provides suitable osteogenic platform. *J Nanobiotechnology*. 2022; 20 (1): 310. doi: 10.1186/s12951-022-01511-9.
164. He L, Meng HX. [Effect of non-surgical periodontal treatment on blood inflammatory parameters, glucose and lipid metabolism in patients with periodontitis and type 2 diabetes mellitus]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2022; 57 (6): 557-562. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.cn112144-20220409-00165.
165. Hienz SA, Paliwal S, Ivanovski S. Mechanisms of bone resorption in periodontitis. *J Immunol Res*. 2015; 615486. doi: 10.1155/2015/615486.
166. Hong M, Kim HY, Seok H, Yeo CD, Kim YS, Song JY. Prevalence and risk factors of periodontitis among adults with or without diabetes mellitus. *Korean J inter Med*. 2016; 31: 910–919. doi: 10.3904/kjim.2016.031.
167. Hsu YT, Nair M, Angelov N, Lalla E, Lee CT. Impact of diabetes on clinical periodontal outcomes following non-surgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 2019; 46 (2): 206-217. doi: 10.1111/jcpe.13044.
168. Huang KC, Chuang PY, Yang TY, Huang TW, Chang SF. Hyperglycemia inhibits osteoblastogenesis of rat bone marrow stromal cells via activation of the Notch2 signaling pathway. *Int J Med Sci*. 2019; 16: 696–703. doi: 10.7150/ijms.32707.

169. Huang M, Hill RG, Rawlinson SC. Strontium (Sr) elicits odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells (hDPSCs): A therapeutic role for Sr in dentine repair? *Acta Biomater.* 2016; 38: 201-211. doi: 10.1016/j.actbio.2016.04.037.
170. Huang Z, Pei X, Graves DT. The interrelationship between diabetes, IL-17 and bone loss. *Curr Osteoporos Rep.* 2020; 18 (1): 23-31. doi: 10.1007/s11914-020-00559-6.
171. Hurtel-Lemaire AS, Mentaverri R, Caudrillier A. The calcium-sensing receptor is involved in strontium ranelate-induced osteoclast apoptosis. New insights into the associated signaling pathways. *The Journal of Biological Chemistry.* 2009; 284 (1): 575–584. doi: 10.1074/jbc.m801668200.
172. Jamil NA, Chau SH, Abdul Razak NI, Shamsul Kamar II, Mohd-Said S, Rani H, Sameeha MJ. Development and evaluation of an integrated diabetes-periodontitis nutrition and health education module. *BMC Med Educ.* 2021; 21 (1): 278. doi: 10.1186/s12909-021-02721-9.
173. Javed F, Romanos GE. Impact of diabetes mellitus and glycemic control on the osseointegration of dental implants: a systematic literature review. *J Periodontol.* 2009; 80: 1719–1730. doi: 10.1902/jop.2009.090283.
174. Jia X, Miron RJ, Yin C, Xu H, Luo T, Wang J, Jia R, Wu M, Zhang Y, Li Y. HnRNPL inhibits the osteogenic differentiation of PDLCs stimulated by SrCl<sub>2</sub> through repressing Setd2. *Journal of Cellular and Molecular Medicine.* 2019; 23 (4): 2667-2677. doi:10.1111/jcmm.14166.
175. Jiang ZL, Cui YQ, Gao R, Li Y, Fu ZC, Zhang B, Guan CC. Study of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and LPS levels in the gingival crevicular fluid of a rat model of diabetes mellitus and periodontitis. *Dis Markers.* 2013; 34 (5): 295-304. doi: 10.3233/DMA-130974.
176. Jiao H, Xiao E, Graves DT. Diabetes and its effect on bone and fracture healing. *Curr Osteoporosis Rep.* 2015; 13: 327–335. doi: 10.1007/s11914-015-0286-8.
177. Jing D, Hao J, Shen Y, Tang G, Li ML, Huang SH. The role of microRNAs in bone remodeling. *Int J Oral Sci.* 2015; 7: 131–143. doi: 10.1038/ijos.2015.22.
178. Joshipura KJ, Munoz-Torres FJ, Dye BA, Leroux BG, Ramirez-Vick M, Perez CM. Longitudinal association between periodontitis and development of diabetes. *Diabet Res Clin Prac.* 2018; 141: 284–293. doi: 10.1016/j.diabres.2018.04.028.

179. Kabisch S, Hedemann OS, Pfeiffer AFH. Periodontitis, age-related diseases and diabetes in an endocrinological outpatient setting (PARADIES): a cross-sectional analysis on predictive factors for periodontitis in a German outpatient facility. *Acta Diabetol.* 2022; 59 (5): 675-686. doi: 10.1007/s00592-021-01838-z.
180. Karakan NC, Akpınar A, Göze F, Poyraz Ö. Investigating the effects of systemically administered strontium ranelate on alveolar bone loss histomorphometrically and histopathologically on experimental periodontitis in rats. *Journal of Periodontology.* 2017; 88 (2): 24-31. doi: 10.1902/jop.2016.160227.
181. Katakawa Y, Funaba M, Murakami M. Smad 8/9 is regulated through the BMP pathway. *J Cell Biochem.* 2016; 117: 1788–1796. doi: 10.1002/jcb.25478.
182. Katyayan PA, Katyayan M, Shah RJ. Rehabilitative considerations for dental implants in the diabetic patient. *J Ind Prosthodont Soc.* 2013; 13: 175–183. doi: 10.1007/s13191-012-0207-9.
183. Kebede TG, Holtfreter B, Kocher T, Meisel P, Dietrich T, Biffar R. Association of periodontal destruction and diabetes with mortality. *J Dental Res.* 2017; 96: 56–63. doi: 10.1177/0022034516668839.
184. Khadilkar VV, Khadilkar AV. Use of vitamin D in various disorders. *Ind J Pediatr.* 2013; 80: 215–218. doi: 10.1007/s12098-012-0877-7.
185. Khajuria DK, Patil ON, Karasik D, Razdan R. Development and evaluation of novel biodegradable chitosan based metformin intrapocket dental film for the management of periodontitis and alveolar bone loss in a rat model. *Arch Oral Biol.* 2018; 85: 120–129. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.10.009.
186. Khashaba O, Alasfar A, Elgendy EA, Mowafey B. Clinical and radiographic diagnostic study of strontium ranelate and metal-substituted hydroxyapatite bone graft materials in diabetes mellitus with chronic periodontitis. *J Adv Periodontol Implant Dent.* 2020; 12 (2): 51-57. doi: 10.34172/japid.2020.015.
187. Khumaedi AI, Purnamasari D, Wijaya IP, Soeroso Y. The relationship of diabetes, periodontitis and cardiovascular disease. *Diabetes Metab Syndr.* 2019; 13 (2): 1675-1678. doi: 10.1016/j.dsx.2019.03.023.

188. Kim JH, Lee DE, Choi SH, Cha JH, Bak EJ, Yoo YJ. Diabetic characteristics and alveolar bone loss in streptozotocin- and streptozotocin-nicotinamide-treated rats with periodontitis. *J Periodontal Res.* 2014; 49 (6): 792-800. doi: 10.1111/jre.12165.
189. Kim JH, Lee DE, Woo GH, Cha JH, Bak EJ, Yoo YJ. Osteocytic sclerostin expression in alveolar bone in rats with diabetes mellitus and ligature-induced periodontitis. *J Periodontol.* 2015; 86 (8): 1005-1011. doi: 10.1902/jop.2015.150083.
190. Kirac D, Dincer Yazan C, Gezmis H, Yaman A, Haklar G, Sirikci O. VDR mutations and other factors related with vitamin D metabolism may be associated with diabetes mellitus. *Cell Mol Biol.* 2018; 64: 11–16.
191. Kızıldağ A, Arabacı T, Albayrak M, Balseven HM, Aksu Kızıldağ C, Tasdemir U. A biochemical and immunohistochemical study of the effects of caffeic acid phenethyl ester on alveolar bone loss and oxidative stress in diabetic rats with experimental periodontitis. *Biotech Histochem.* 2020; 95 (6): 456-463. doi: 10.1080/10520295.2020.1718756.
192. Ko KI, Coimbra LS, Tian C, Alblowi J, Kayal RA, Einhorn TA. Diabetes reduces mesenchymal stem cells in fracture healing through a TNFalpha-mediated mechanism. *Diabetologia.* 2015; 58: 633–642. doi: 10.1007/s00125-014-3470-y.
193. Kocher T, König J, Borgnakke WS, Pink C, Meisel P. Periodontal complications of hyperglycemia/diabetes mellitus: Epidemiologic complexity and clinical challenge. *Periodontol 2000.* 2018; 78 (1): 59-97. doi: 10.1111/prd.12235.
194. Kose O, Arabaci T, Kara A, Yemenoglu H, Kermen E, Kizildag A. Effects of melatonin on oxidative stress index and alveolar bone loss in diabetic rats with periodontitis. *J Periodontol.* 2016; 87: 82–90. doi: 10.1902/jop.2016.150541.
195. Laine ML, Rijkschroeff P, de Vries TJ, Zaura E. Parodontitis; infectie of ontsteking? [Periodontitis - infection or inflammation?]. *Ned Tijdschr Tandheelkd.* 2021; 128 (12): 599-603. Dutch. doi: 10.5177/ntvt.2021.12.21109.
196. Lamster IB. Diabetes and oral health. What's their relationship? *Diabet Self Manag.* 2012; 30: 32–34.

197. Lavigne SE, Forrest JL. An umbrella review of systematic reviews examining the relationship between type 2 diabetes and periodontitis: Position paper from the Canadian Dental Hygienists Association. *Can J Dent Hyg.* 2021; 55 (1): 57-67.
198. Lee CY, Kuan YH, Tsai YF, Tai CJ, Tsai TH, Huang KH. Correlation between diabetes mellitus and periodontitis in Taiwan: A nationwide cohort study. *Diabetes Res Clin Pract.* 2019; 150: 245-252. doi: 10.1016/j.diabres.2019.03.019.
199. Lee K, Kim J. Dairy food consumption is inversely associated with the prevalence of periodontal disease in Korean adults. *Nutrients.* 2019; 11: 1035. doi: 10.3390/nu11051035.
200. Lektemur Alpan A, Bakar O, Kızıldağ A, Özdede M, Topsakal Ş, Özmen Ö. Effects of taxifolin on bone formation and apoptosis in experimental periodontitis in diabetic rats. *Biotech Histochem.* 2022; 97 (4): 306-314. doi: 10.1080/10520295.2021.1977997.
201. Lektemur Alpan A, Çalışır M. The effect of two different doses of astaxanthin on alveolar bone loss in an experimental model of periodontitis in diabetic rats. *J Vet Dent.* 2022: 8987564221093736. doi: 10.1177/08987564221093736.
202. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia.* 2008; 51 (2): 216–226.
203. Li J, Lu H, Wu H, Huang S, Chen L, Gui Q, Zhou W, Yang Y, Wu Y, Zhang H, Zhang Q, Yang Y. Periodontitis in elderly patients with type 2 diabetes mellitus: impact on gut microbiota and systemic inflammation. *Aging (Albany NY).* 2020; 12 (24): 25956-25980. doi: 10.18632/aging.202174.
204. Li M, Huang S, Zhang Y, Song Z, Fu H, Lin Z, Huang X. Regulation of the unfolded protein response transducer IRE1 $\alpha$  by SERPINH1 aggravates periodontitis with diabetes mellitus via prolonged ER stress. *Cell Signal.* 2022; 91: 110241. doi: 10.1016/j.cellsig.2022.110241.
205. Li X, Sun X, Zhang X, Mao Y, Ji Y, Shi L, Cai W, Wang P, Wu G, Gan X, Huang S. Enhanced oxidative damage and Nrf2 downregulation Contribute to the aggravation of periodontitis by diabetes mellitus. *Oxid Med Cell Longev.* 2018; 9421019. doi: 10.1155/2018/9421019.

206. Li Y, Du Z, Xie X, Zhang Y, Liu H, Zhou Z, Zhao J, Lee RS, Xiao Y, Ivanovski S, Yan F. Epigenetic changes caused by diabetes and their potential role in the development of periodontitis. *J Diabetes Investig.* 2021; 12 (8): 1326-1335. doi: 10.1111/jdi.13477.
207. Li Y, Li J, Zhu S. Effects of strontium on proliferation and differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2012; 418 (4): 725–730. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.01.088.
208. Li Z, Wang Y, Wang XN, Lan AP, Wu W. Strontium ranelate promotes osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells by increasing bone morphogenetic protein-7 expression. *Nan fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2011; 31 (11): 1949–1953.
209. Liljestrang JM, Havulinna AS, Paju S, Mannisto S, Salomaa V, Pussinen PJ. Missing teeth predict incident cardiovascular events, diabetes, and death. *J Dental Res.* 2015; 94: 1055–1062. doi: 10.1177/0022034515586352.
210. Lin MK, Li LL, Yan FH. [Research progress in the relationship between prediabetes mellitus and periodontitis]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2022; 57 (6): 629-634. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.cn112144-20220328-00140.
211. Lira Junior R, Santos CM, Oliveira BH, Fischer RG, Santos AP. Effects on HbA1c in diabetic patients of adjunctive use of systemic antibiotics in nonsurgical periodontal treatment: A systematic review. *J Dent.* 2017; 66: 1-7. doi: 10.1016/j.jdent.2017.08.001.
212. Liu Y, Yu Y, Nickel JC, Iwasaki LR, Duan P, Simmer-Beck M, Brown L. Gender differences in the association of periodontitis and type 2 diabetes. *Int Dent J.* 2018; 68 (6): 433-440. doi: 10.1111/idj.12399.
213. Luong A, Tawfik AN, Islamoglu H, Gobriel HS, Ali N, Ansari P, Shah R, Hung T, Patel T, Henson B, Thankam F, Lewis J, Mintline M, Boehm T, Tumur Z, Seleem D. Periodontitis and diabetes mellitus co-morbidity: A molecular dialogue. *J Oral Biosci.* 2021; 63 (4): 360-369. doi: 10.1016/j.job.2021.10.006.
214. Madianos PN, Koromantzos PA. An update of the evidence on the potential impact of periodontal therapy on diabetes outcomes. *J Clin Periodontol.* 2018; 45 (2): 188-195. doi: 10.1111/jcpe.12836 .

215. Maekawa S, Katagiri S, Takeuchi Y, Komazaki R, Ohtsu A, Udagawa S. Bone metabolic microarray analysis of ligature-induced periodontitis in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Periodontal Res.* 2017; 52: 233–245. doi: 10.1111/jre.12387.
216. Mainas G, Ide M, Rizzo M, Magan-Fernandez A, Mesa F, Nibali L. Managing the systemic impact of periodontitis. *Medicina (Kaunas).* 2022; 58 (5): 621. doi: 10.3390/medicina58050621.
217. Malta FS, Garcia RP, Azarias JS, Ribeiro GKDR, Miranda TS, Shibli JA, Bastos MF. Impact of hyperglycemia and treatment with metformin on ligature-induced bone loss, bone repair and expression of bone metabolism transcription factors. *PLoS One.* 2020; 15 (8): e0237660. doi: 10.1371/journal.pone.0237660.
218. Mammen J, Vadakkekuttikal RJ, George JM, Kaziarakath JA, Radhakrishnan C. Effect of non-surgical periodontal therapy on insulin resistance in patients with type II diabetes mellitus and chronic periodontitis, as assessed by Cpeptide and the homeostasis assessment index. *J Investig Clin Dent.* 2017; 8: 12221. doi: 10.1111/jicd.12221.
219. Marie PJ, Hott M, Modrowski D. An uncoupling agent containing strontium prevents bone loss by depressing bone resorption and maintaining bone formation in estrogen-deficient rats. *Journal of Bone and Mineral Research.* 1993; 8 (5): 607–615.
220. Marie PJ, Ammann P, Boivin G, Rey C. Mechanisms of action and therapeutic potential of strontium in bone. *Calcif Tissue Int.* 2001; 69: 121–129. doi: 10.1007/s002230010055.
221. Marins LM, Napimoga MH, Malta FS, Miranda TS, Nani EP, Franco BST, Silva HDP, Mendes P. Effects of strontium ranelate on ligature-induced periodontitis in estrogen-deficient and estrogen-sufficient rats. *Journal of Periodontal Reserch.* 2020; 55(1): 141-151. doi: 10.1111/jre.12697.
222. Martelli FS, Martelli M, Rosati C, Fanti E. Vitamin D: relevance in dental practice. *Clin Cases Min Bone Metabol.* 2014; 11: 15–19.
223. Martínez-Aguilar VM, Carrillo-Ávila BA, Sauri-Esquivel EA, Guzmán-Marín E, Jiménez-Coello M, Escobar-García DM, Pozos-Guillén A. Quantification of TNF- $\alpha$  in patients with periodontitis and type 2 diabetes. *Biomed Res Int.* 2019; 7984891. doi: 10.1155/2019/7984891.

224. Mathew JE, Jacob JJ, Kalra S. Periodontitis management in diabetes care. *J Pak Med Assoc.* 2021; 71 (8): 2097-2099.
225. Matvieienko L. Effect of strontium ranelate on alveolar bone in rats with experimental general periodontitis. Collection of scientific works “Modern scientific challenges and trends”. Poland, Warshava. 2020. P. 46-48.
226. Matvieienko LM, Matvieienko RY, Fastovets OO. Effects of strontium ranelate on alveolar bone in rats with experimental diabetes mellitus. *Wiadomosci Lekarskie.* 2022; 75 (1 p. 2): 151-155. doi: 10.36740/WLek202201201.
227. Matvieienko LM. The comparative study of two experimental models of generalized periodontitis in rats. International Scientific and Practical Conference “Medicine and Health Care: topical issues and current aspects”. Republic of Poland, Lublin. 2021. P. 105-108. doi: 10.30525/978-9934-26-038-4-28.
228. Mauri-Obradors E, Merlos A, Estrugo-Devesa A, Jane-Salas E, Lopez-Lopez J, Vinas M. Benefits of non-surgical periodontal treatment in patients with type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis: a randomized controlled trial. *J Clin Periodontol.* 2018; 45: 345–353. doi: 10.1111/jcpe.12858.
229. Maxwell CS, Wood RJ. Update on vitamin D and type 2 diabetes. *Nutr Rev.* 2011; 69: 291–295. doi: 10.1111/j.1753-4887.2011.00393.x.
230. Mei L, Huang X, Xie Y, Chen J, Huang Y, Wang B. An injectable in situ gel with cubic and hexagonal nanostructures for local treatment of chronic periodontitis. *Drug Deliv.* 2017; 24: 1148–1158. doi: 10.1080/10717544.2017.1359703.
231. Meng HZ, Zhang WL, Liu F, Yang MW. Advanced glycation end products affect osteoblast proliferation and function by modulating autophagy via the receptor of advanced glycation end products/raf protein/mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase kinase/extracellular signal-regulated kinase (RAGE/Raf/MEK/ERK) pathway. *J Biol Chem.* 2015; 290: 28189–28199. doi: 10.1074/jbc.M115.669499.
232. Menzel LP, Ruddick W, Chowdhury MH, Brice DC, Clance R, Porcelli E. Activation of vitamin D in the gingival epithelium and its role in gingival inflammation and alveolar bone loss. *J Periodont Res.* 2019; 54: 444–452. doi: 10.1111/jre.12646.

233. Merchant AT, Georgantopoulos P, Howe CJ, Virani SS, Morales DA, Haddock KS. Effect of long-term periodontal care on hemoglobin A1c in type 2 diabetes. *J Dent Res*. 2016; 95 (4): 408-415. doi: 10.1177/0022034515622197.
234. Miranda TS, Feres M, Perez-Chaparro PJ, Faveri M, Figueiredo LC, Tamashiro NS, et al. Metronidazole and amoxicillin as adjuncts to scaling and root planing for the treatment of type 2 diabetic subjects with periodontitis: 1-year outcomes of a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2014; 41 (9): 890-899. doi: 10.1111/jcpe.12282.
235. Misawa Y, Kageyama T, Sahara N. Effect of age on alveolar bone turnover adjacent to maxillary molar roots in male rats: A histomorphometric study. *Archives of Oral Biology*. 2007; 52 (1): 44-50.
236. Mishima N, Sahara N, Shirakawa M, Ozawa H. Effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on alveolar bone deposition in the rat. *Archives of Oral Biology*. 2002; 47 (12): 843-849.
237. Moon JS, Kim SH, Oh SH, Jeong YW, Kang JH, Park JC. Relaxin augments BMP-2-induced osteoblast differentiation and bone formation. *J Bone Min Res*. 2014; 29: 1586–1596. doi: 10.1002/jbmr.2197.
238. Moon JS, Lee SY, Kim JH, Choi YH, Yang DW, Kang JH, Ko HM, Cho JH, Koh JT, Kim WJ, Kim MS, Kim SH. Synergistic alveolar bone resorption by diabetic advanced glycation end products and mechanical forces. *J Periodontol*. 2019; 90 (12): 1457-1469. doi: 10.1002/JPER.18-0453.
239. Moraes RM, Lima GM, Oliveira FE, Brito AC, Pereira RC, Oliveira LD, Barros PP, Franco GC, Anbinder AL. Exenatide and sitagliptin decrease interleukin 1 $\beta$ , matrix metalloproteinase 9, and nitric oxide synthase 2 gene expression but does not reduce alveolar bone loss in rats with periodontitis. *J Periodontol*. 2015; 86 (11): 1287-1295. doi: 10.1902/jop.2015.150278.
240. Mourão Carillo Jr R. Homeopathy and periodontal treatment in type II diabetic patients: a 1-year randomized clinical trial. *Braz Dent J*. 2019; 30 (2): 139-145. doi: 10.1590/0103-6440201902124.

241. Mukaiyama K, Kamimura M, Uchiyama S, Ikegami S, Nakamura Y, Kato H. Elevation of serum alkaline phosphatase (ALP) level in postmenopausal women is caused by high bone turnover. *Aging Clin Exp Res.* 2015; 27: 413–418. doi: 10.1007/s40520-014-0296-x.
242. Naiff PF, Kuckelhaus SA, Couto S, Oliveira M, Santiago LM, Cascaes AC, Silva LF, Oliveira LA, Grisi DC, Carneiro VM, Guimarães MD. Phagocytic activity of monocytes and neutrophils in patients with periodontitis, whether or not associated to type 2 diabetes. *Acta Odontol Latinoam.* 2021; 34 (3): 201-213. English. doi: 10.54589/aol.34/3/201.
243. Nana Nana AR, Tsobgny Tsague NF, Lontchi-Yimagou E, Bengondo Messanga C, Tankeu A, Katte JC, Balti Vounsia E, Dehayem M, Sobngwi E. Effects of non-surgical treatment of chronic periodontitis on insulin resistance and glucose tolerance in subjects without diabetes (PARODIA 2 study). *J Investig Med.* 2021; 69 (7): 1377-1381. doi: 10.1136/jim-2021-001831.
244. Nardone V, Zonefrati R, Mavilia C, Romagnoli C, Ciuffi S, Fabbri S, Palmini G, Galli G, Tanini A, Brandi ML. In vitro effects of strontium on proliferation and osteoinduction of human preadipocytes. *Stem Cells Int.* 2015; 871863. doi: 10.1155/2015/871863.
245. Nascimento GG, Leite FRM, Vestergaard P. Does diabetes increase the risk of periodontitis? A systematic review and meta-regression analysis of longitudinal prospective studies. *Acta Diabetologica.* 2018; 55 (7): 653-667. doi: 10.1007/s00592-018-1120-4.
246. Ndjidda Bakari W, Diallo AM, Danwang C, Nzalie RNT, Benoist HM. Long-term effect of non-surgical periodontal treatment on glycaemic control in patients with diabetes with periodontitis: a systematic review and meta-analysis protocol. *BMJ Open.* 2021; 11 (2): e043250. doi: 10.1136/bmjopen-2020-043250.
247. Nicchio IG, Cirelli T, Nepomuceno R, Hidalgo MAR, Rossa C Jr, Cirelli JA, Orrico SRP, Barros SP, Theodoro LH, Scarel-Caminaga RM. Polymorphisms in genes of lipid metabolism are associated with type 2 diabetes mellitus and periodontitis, as

comorbidities, and with the subjects' periodontal, glycemic, and lipid profiles. *J Diabetes Res.* 2021; 1049307. doi: 10.1155/2021/1049307.

248. Nunes NLT, Messoria MR, Oliveira LF, Lisboa M, Garcia MCB, Rêgo RO, Novaes AB Jr, de Souza SLS, Ervolino E, Furlaneto FAC. Effects of local administration of tiludronic acid on experimental periodontitis in diabetic rats. *J Periodontol.* 2018; 89 (1): 105-116. doi: 10.1902/jop.2017.170228.

249. Oberti L, Gabrione F, Nardone M, Di Girolamo M. Two-way relationship between diabetes and periodontal disease: a reality or a paradigm? *J Biol Regul Homeost Agents.* 2019; 33(3 Suppl. 1): 153-159.

250. Ozdemir SP, Kurtiş B, Tüter G, Bozkurt Ş, Gültekin SE, Sengüven B, Watanabe K, Aydın S. Effects of low-dose doxycycline and bisphosphonate clodronate on alveolar bone loss and gingival levels of matrix metalloproteinase-9 and interleukin-1 $\beta$  in rats with diabetes: a histomorphometric and immunohistochemical study. *J Periodontol.* 2012; 83 (9): 1172-1182. doi: 10.1902/jop.2012.110459.

251. Pacios S, Andriankaja O, Kang J, Alnammary M, Bae J, de Brito Bezerra B, Schreiner H, Fine DH, Graves DT. Bacterial infection increases periodontal bone loss in diabetic rats through enhanced apoptosis. *Am J Pathol.* 2013; 183 (6): 1928-1935. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.08.017.

252. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH. Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *Journal of Bone Mineral Reseach.* 1987; 2 (6): 595-610.

253. Park MS, Jeon J, Song TJ, Kim J. Association of periodontitis with microvascular complications of diabetes mellitus: A nationwide cohort study. *J Diabetes Complications.* 2022; 36 (2): 108107. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2021.108107.

254. Patil VS, Patil VP, Gokhale N, Acharya A, Kangokar P. Chronic periodontitis in type 2 diabetes mellitus: oxidative stress as a common factor in periodontal tissue injury. *J Clin Diagn Res.* 2016; 10: 12–16. doi: 10.7860/JCDR/2016/17350.7542.

255. Pepelassi E, Xynogala I, Perrea D, Pantopoulou A, Agrogiannis G, Vrotsos I. The effect of experimental periodontitis, experimental diabetes and their combination on the

- serum levels of adiponectin, leptin, IL-6, IL-18, MCP-1, RANTES and sICAM-1 in rats. *J Int Acad Periodontol*. 2020; 22 (1): 1-10.
256. Philip M, Preshaw SM, Bissett. Periodontitis and diabetes. *Br Dent J*. 2019; 227: 577–584. doi: 10.1038/s41415-019-0794-5.
257. Pierrefite-Carle V, Santucci-Darmanin S, Breuil V, Camuzard O, Carle GF. Autophagy in bone: Self-eating to stay in balance. *Ageing Res Rev*. 2015; 24: 206–217. doi: 10.1016/j.arr.2015.08.004.
258. Pietschmann P, Patsch JM, Schernthaner G. Diabetes and bone. *Horm Metabol Res*. 2010; 42: 763–768. doi: 10.1055/s-0030-1262825.
259. Pirih FQ, Monajemzadeh S, Singh N, Sinacola RS, Shin JM, Chen T, Fenno JC, Kamarajan P, Rickard AH, Travan S, Paster BJ, Kapila Y. Association between metabolic syndrome and periodontitis: The role of lipids, inflammatory cytokines, altered host response, and the microbiome. *Periodontol 2000*. 2021; 87 (1): 50-75. doi: 10.1111/prd.12379.
260. Piscitelli P, Neglia C, Vigilanza A, Colao A. Diabetes and bone: biological and environmental factors. *Curr Opin Endocrinol Diabet Obes*. 2015; 22: 439–445. doi: 10.1097/MED.0000000000000203.
261. Polak D, Sanui T, Nishimura F, Shapira L. Diabetes as a risk factor for periodontal disease-plausible mechanisms. *Periodontol 2000*. 2020; 83 (1): 46-58. doi: 10.1111/prd.12298.
262. Polak D, Shapira L. An update on the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Clin Periodontol*. 2018; 45 (2): 150-166. doi: 10.1111/jcpe.12803.
263. Potârniche AV, Dreancă AI, Sarpataki O, Sevastre B, Marcus I. Experimental model of Streptozotocin-Nicotinamide induced Diabetes Mellitus type II in Sprague-Dawley rats: Step by step protocol and the encountered issues *Rev Rom Med Vet*. 2018; 28 (2): 22-26.
264. Pradeep AR, Agarwal E, Bajaj P, Rao NS. 4-Hydroxy-2-nonenal, an oxidative stress marker in crevicular fluid and serum in type 2 diabetes with chronic periodontitis. *Contemp Clin Dentistr*. 2013; 4: 281–285. doi: 10.4103/0976-237X.118342.

265. Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, Jepsen S, Konstantinidis A, Makrilakis K. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia*. 2012; 55: 21–31. doi: 10.1007/s00125-011-2342-y.
266. Preshaw PM, Bissett SM. Periodontitis and diabetes. *Br Dent J*. 2019; 227 (7): 577-584. doi: 10.1038/s41415-019-0794-5.
267. Preshaw PM, Taylor JJ, Jaedicke KM, De Jager M, Bikker JW, Selten W, Bissett SM, Whall KM, van de Merwe R, Areibi A, Jitprasertwong P, Al-Shahwani R, Weaver J, Taylor R, Wassall RR. Treatment of periodontitis reduces systemic inflammation in type 2 diabetes. *J Clin Periodontol*. 2020; 47 (6): 737-746. doi: 10.1111/jcpe.13274.
268. Puttaswamy KA, Puttabudhi JH, Raju S. Correlation between salivary glucose and blood glucose and the implications of salivary factors on the oral health status in type 2 diabetes mellitus patients. *J Int Soc Prev Commun Dentistr*. 2017; 7: 28–33. doi: 10.4103/2231-0762.200703.
269. Quintero AJ, Chaparro A, Quirynen M, Ramirez V, Prieto D, Morales H, Prada P, Hernández M, Sanz A. Effect of two periodontal treatment modalities in patients with uncontrolled type 2 diabetes mellitus: A randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2018; 45 (9): 1098-1106. doi: 10.1111/jcpe.12991.
270. Radhakrishnan P, Anbalagan R, Barani R, Mani M, Seshadri KG, Srikanth P. Sequencing of *Porphyromonas gingivalis* from saliva in patients with periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *Indian J Med Microbiol*. 2019; 37 (1): 54-59. doi: 10.4103/ijmm.IJMM\_18\_409.
271. Rao A, Thomas B, Prasad RB, Kumari SB, Vishakh R, Subba TA. A comparative evaluation of the DNA damage in the serum of chronic periodontitis patients with and without diabetes mellitus type II. *Indian J Dent Res*. 2020; 31 (2): 169-174. doi: 10.4103/ijdr.IJDR\_503\_17.
272. Rapone B, Ferrara E, Corsalini M, Qorri E, Converti I, Lorusso F, Delvecchio M, Gnoni A, Scacco S, Scarano A. Inflammatory status and glycemic control level of patients with type 2 diabetes and periodontitis: a randomized clinical trial. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18 (6): 3018. doi: 10.3390/ijerph18063018.

273. Ren XY, Wang C, Liu X, Li H, Gao JH, Ge XJ. [Establishment of rat model with diabetes mellitus and concomitant periodontitis and the carotid artery lesions in the model rats]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2017; 52 (12): 747-752. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.issn.1002-0098.2017.12.007.
274. Ribeiro FV, de Mendonca AC, Santos VR, Bastos MF, Figueiredo LC, Duarte PM. Cytokines and bone-related factors in systemically healthy patients with chronic periodontitis and patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2011; 82: 1187– 1196. doi: 10.1902/jop.2011.100643.
275. Rimachi Hidalgo MA, Cirelli T, da Silva BR, Nicchio IG, Nepomuceno R, Orrico SRP, Cirelli JA, Theodoro LH, Barros SP, Scarel-Caminaga RM. Polymorphisms and haplotypes in the Interleukin 17 Alfa gene: potential effect of smoking habits in the association with periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *Mol Biol Rep*. 2021; 48 (2): 1103-1114. doi: 10.1007/s11033-021-06172-9.
276. Rodrigues TA, de Oliveira Freire A, Carvalho HC. Prophylactic and therapeutic use of strontium ranelate reduces the progression of experimental osteoarthritis. *Front Pharmacol*. 2018; 9: 975. doi: 10.3389/fphar.2018.00975. eCollection 2018.
277. Romagnoli C, Zonefrati R, Galli G, Aldinucci A, Nuti N, Martelli FS, Tonelli P, Tanini A, Brandi ML. The effect of strontium chloride on human periodontal ligament stem cells. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2017; 14 (3): 283-293. doi: 10.11138/ccmbm/2017.14.3.283.
278. Romano F, Perotto S, Mohamed SEO, Giraudi M, Bernardi S, Durazzo M, Gruden G, Aimetti M. Type 2 diabetes mellitus and periodontitis: Are diabetic patients aware about this bidirectional association? *Acta Diabetol*. 2021; 58 (9): 1277-1280. doi: 10.1007/s00592-021-01734-6.
279. Römer P, Desaga B, Proff P, Faltermeier A, Reicheneder C. Strontium promotes cell proliferation and suppresses IL-6 expression in human PDL cells. *Ann Anat*. 2012; 194 (2): 208-211. doi: 10.1016/j.aanat.2011.09.008.
280. Roy B. Biomolecular basis of the role of diabetes mellitus in osteoporosis and bone fractures. *World J Diabet*. 2013; 4: 101–113. doi: 10.4239/wjd.v4.i4.101.

281. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery*. 2004; 62 (5): 527-534.
282. Salhi L, Reners M. Update on the bidirectional link Between diabetes and periodontitis. *Adv Exp Med Biol*. 2022; 1373: 231-240. doi: 10.1007/978-3-030-96881-6\_12.
283. Sanz M, Ceriello A, Buysschaert M, Chapple I, Demmer RT, Graziani F, Herrera D, Jepsen S, Lione L, Madianos P, Mathur M, Montanya E, Shapira L, Tonetti M, Vegh D. Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International Diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2018; 45 (2): 138-149. doi: 10.1111/jcpe.12808.
284. Schacter GI, Leslie WD. Diabetes and bone disease. *Endocrinol Metabol ClinAm*. 2017; 46: 63–85. doi: 10.1016/j.ecl.2016.09.010.
285. Sealand R, Razavi C, Adler RA. Diabetes mellitus and osteoporosis. *CurrDiabet Rep*. 2013; 13: 411–418. doi: 10.1007/s11892-013-0376-x.
286. Seshima F, Nishina M, Namba T, Saito A. Periodontal regenerative therapy in patient with chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus: a case report. *Bull Tokyo Dent Coll*. 2016; 57 (2): 97-104. doi: 10.2209/tdcpublication.2015-0041.
287. Shi B, Lux R, Klokkevold P, Chang M, Barnard E, Haake S, Li H. The subgingival microbiome associated with periodontitis in type 2 diabetes mellitus. *ISME J*. 2020; 14 (2): 519-530. doi: 10.1038/s41396-019-0544-3.
288. Shi LX, Zhang L, Zhang DL, Zhou JP, Jiang XJ, Jin YL, Chang WW. Association between TNF- $\alpha$  G-308A (rs1800629) polymorphism and susceptibility to chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *J Periodontal Res*. 2021; 56 (2): 226-235. doi: 10.1111/jre.12820.
289. Siddiqi A, Zafar S, Sharma A, Quaranta A. Awareness of diabetic patients regarding the bidirectional association between periodontal disease and diabetes mellitus: a public oral health concern. *J Contemp Dent Pract*. 2020; 21 (11): 1270-1274.

290. Simpson TC, Clarkson JE, Worthington HV, MacDonald L, Weldon JC, Needleman I, Iheozor-Ejiofor Z, Wild SH, Qureshi A, Walker A, Patel VA, Boyers D, Twigg J. Treatment of periodontitis for glycaemic control in people with diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev.* 2022; 4 (4): CD004714. doi: 10.1002/14651858.CD004714.pub4.
291. Slots J. Periodontitis: facts, fallacies and the future. *Periodontol 2000.* 2017; 75 (1): 7-23. doi: 10.1111/prd.12221.
292. Soboku K, Kikuchi T, Fujita S, Takeda H, Naruse K, Matsubara T, Noguchi T. Altered gene expression in gingival tissues and enhanced bone loss in rats with diabetes with experimental periodontitis. *J Periodontol.* 2014; 85 (3): 455-64. doi: 10.1902/jop.2013.120705.
293. Solowiej-Wedderburn J, Ide M, Pennington M. Cost-effectiveness of non-surgical periodontal therapy for patients with type 2 diabetes in the UK. *J Clin Periodontol.* 2017; 44 (7): 700-707. doi: 10.1111/jcpe.12746
294. Song TJ, Jeon J, Kim J. Cardiovascular risks of periodontitis and oral hygiene indicators in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Metab.* 2021; 47 (6): 101252. doi: 10.1016/j.diabet.2021.101252.
295. Sonnenschein SK, Meyle J. Local inflammatory reactions in patients with diabetes and periodontitis. *Periodontology.* 2015; 69: 221–254. doi: 10.1111/prd.12089.
296. Stanko P, Izakovicova Holla L. Bidirectional association between diabetes mellitus and inflammatory periodontal disease. A review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky, Olomouc, Czech.* 2014; 158: 35–38. doi: 10.5507/bp.2014.005.
297. Stöhr J, Barbaresko J, Neuenschwander M, Schlesinger S. Bidirectional association between periodontal disease and diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Sci Rep.* 2021; 11 (1): 13686. doi: 10.1038/s41598-021-93062-6.
298. Su N, Teeuw WJ, Loos BG, Kosho MXF, van der Heijden GJMG. Development and validation of a screening model for diabetes mellitus in patients with periodontitis in dental settings. *Clin Oral Investig.* 2020; 24 (11): 4089-4100. doi: 10.1007/s00784-020-03281-w.

299. Sun S, Zhang D, Wu Y, Yan L, Liu J, Pan C, Pan Y. The expression of inducible nitric oxide synthase in the gingiva of rats with periodontitis and diabetes mellitus. *Arch Oral Biol.* 2020; 112: 104652. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104652.
300. Szkudelski T. Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Experimental Biology and Medicine.* 2012; 237 (5): 481-490. doi:10.1258/ebm.2012.011372.
301. Tang L, Li T, Chang Y, Wang Z, Li Y, Wang F, Sui L. Diabetic oxidative stress-induced telomere damage aggravates periodontal bone loss in periodontitis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022; 614: 22-28. doi: 10.1016/j.bbrc.2022.04.039.
302. Techatanawat S, Surarit R, Chairatvit K, Khovidhunkit W, Roytrakul S, Thanakun S, Kobayashi H, Khovidhunkit SP, Izumi Y. Salivary and serum interleukin-17A and interleukin-18 levels in patients with type 2 diabetes mellitus with and without periodontitis. *PLoS One.* 2020; 15 (2): e0228921. doi: 10.1371/journal.pone.0228921.
303. Teeuw WJ, Gerdes VE, Loos BG. Effect of periodontal treatment on glycemic control of diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care.* 2010; 33 (2): 421-427. doi: 10.2337/dc09-1378.
304. Teeuw WJ, Kosho MX, Poland DC, Gerdes VE, Loos BG. Periodontitis as a possible early sign of diabetes mellitus. *BMJ Open Diabet Res Care.* 2017; 5: e000326. doi: 10.1136/bmjdrc-2016-000326.
305. Teeuw WJ. Serie: Hora est. Parodontitis, diabetes mellitus, hart- en vaatziekten: een Bermudadriehoek. *Ned Tijdschr Tandheelkd.* 2017; 124 (10): 511-513. doi: 10.5177/ntvt.2017.10.17140.
306. Toker H, Balci Yuce H, Lektemur Alpan A, Gevrek F, Elmastas M. Morphometric and histopathological evaluation of the effect of grape seed proanthocyanidin on alveolar bone loss in experimental diabetes and periodontitis. *J Periodontal Res.* 2018; 53 (3): 478-486. doi: 10.1111/jre.12536.
307. Toraman A, Arabaci T, Aytekin Z, Albayrak M, Bayir Y. Effects of vitamin C local application on ligature-induced periodontitis in diabetic rats. *J Appl Oral Sci.* 2020; 28: e20200444. doi: 10.1590/1678-7757-2020-0444.

308. Valentim FB, Carneiro VC, Costa Gomes PD, Rosetti EP. The importance of integrated healthcare in the association between oral health and awareness of periodontitis and diabetes in type 2 diabetics. *Oral Health Prev Dent.* 2021; 19 (1): 1-6. doi: 10.3290/j.ohpd.b875369.
309. Verhulst MJL, Loos BG, Gerdes VEA, Teeuw WJ. Evaluating all potential oral complications of diabetes mellitus. *Front Endocrinol.* 2019; 10: 56. doi: 10.3389/fendo.2019.00056.
310. Wang Q, Nie L, Zhao P, Zhou X, Ding Y, Chen Q, Wang Q. Diabetes fuels periodontal lesions via GLUT1-driven macrophage inflammaging. *Int J Oral Sci.* 2021; 13 (1): 11. doi: 10.1038/s41368-021-00116-6.
311. Wang Q, Zhou X, Zhang P, Zhao P, Nie L, Ji N. 25-hydroxyvitamin D3 positively regulates periodontal inflammaging via SOCS3/STAT signaling in diabetic mice. *Steroids.* 2020; 156:108570. doi: 10.1016/j.steroids.2019.108570.
312. Wang X, Wang H, Zhang T, Cai L, Kong C, He J. Current knowledge regarding the interaction between oral bone metabolic disorders and diabetes mellitus. *Front. Endocrinol.* 2020; 11: 536. doi: 10.3389/fendo.2020.00536.
313. Wei L, Jiang Y, Zhou W, Liu S, Liu Y, Rausch-Fan X, Liu Z. Strontium ion attenuates lipopolysaccharide-stimulated proinflammatory cytokine expression and lipopolysaccharide-inhibited early osteogenic differentiation of human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res.* 2018; 53 (6): 999-1008. doi: 10.1111/jre.12599.
314. Wernicke K, Grischke J, Stiesch M, Zeissler S, Krüger K, Bauer P, Hillebrecht A, Eberhard J. Influence of physical activity on periodontal health in patients with type 2 diabetes mellitus. A blinded, randomized, controlled trial. *Clin Oral Investig.* 2021; 25 (11): 6101-6107. doi: 10.1007/s00784-021-03908-6.
315. Winning L, Patterson CC, Neville CE, Kee F, Linden GJ. Periodontitis and incident type 2 diabetes: a prospective cohort study. *J Clin Periodontol.* 2017; 44: 266–274. doi: 10.1111/jcpe.12691.
316. Wongdee K, Charoenphandhu N. Osteoporosis in diabetes mellitus: possible cellular and molecular mechanisms. *World J Diabet.* 2011; 2: 41–48. doi: 10.4239/wjd.v2.i3.41.

317. Wu C, Zhou Y, Lin C, Chang J, Xiao Y. Strontium-containing mesoporous bioactive glass scaffolds with improved osteogenic/cementogenic differentiation of periodontal ligament cells for periodontal tissue engineering. *Acta Biomater.* 2012; 8 (10): 3805-3815. doi: 10.1016/j.actbio.2012.06.023.
318. Wu CZ, Yuan YH, Liu HH, Li SS, Zhang BW, Chen W, An ZJ, Chen SY, Wu YZ, Han B, Li CJ, Li LJ. Epidemiologic relationship between periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *BMC Oral Health.* 2020; 20 (1): 204. doi: 10.1186/s12903-020-01180-w.
319. Wu YY, Xiao E, Graves DT. Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease. *Int J Oral Sci.* 2015; 7 (2): 63-72. doi: 10.1038/ijos.2015.2.
320. Wu YY, Yu T, Zhang XH, Liu YS, Li F, Wang YY, et al. 1,25 (OH) 2D3 inhibits the deleterious effects induced by high glucose on osteoblasts through undercarboxylated osteocalcin and insulin signaling. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2012; 132: 112–119. doi: 10.1016/j.jsbmb.2012.05.002.
321. Xiao E, Mattos M, Vieira GHA, Chen S, Correa JD, Wu Y. Diabetes enhances il-17 expression and alters the oral microbiome to increase its pathogenicity. *Cell Host Microbe.* 2017; 22: 120–128. doi: 10.1016/j.chom.2017.06.014.
322. XiaoW, Wang Y, Pacios S, Li S, Graves DT. Cellular and molecular aspects of bone remodeling. *Front Oral Biol.* 2016; 18: 9–16. doi: 10.1159/000351895.
323. Xiong Y, Zhang Y, Guo Y, Yuan Y, Guo Q, Gong P. 1 $\alpha$ ,25- Dihydroxyvitamin D3 increases implant osseointegration in diabetic mice partly through FoxO1 inactivation in osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017; 494: 626–633. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.10.024.
324. Xu JL, Meng HX, He L, Wang XE, Zhang L. The effects of initial periodontal therapy on the serum receptor activator of nuclear factor-kappabeta ligand/osteoprotegerin system in patients with type 2 diabetes mellitus and periodontitis. *J Periodontol.* 2016; 87: 303–311. doi: 10.1902/jop.2015.150480.
325. Yang F, Yang D, Tu J, Zheng Q, Cai L, Wang L. Strontium enhances osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and in vivo bone formation by activating Wnt/catenin signaling. *Stem Cells.* 2011; 29 (6): 981-991. doi: 10.1002/stem.646.

326. Yang M, Pang Y, Pei M, Li Y, Yuan X, Tang R, Wang J. Therapeutic potential of liraglutide for diabetes-periodontitis comorbidity: killing two birds with one stone. *J Diabetes Res.* 2022; 8260111. doi: 10.1155/2022/8260111.
327. Yang S, Cheng R, Xu X, Zhang R, Zhao Y, Shi X, Gao J, Yu F, Ren X. Periodontitis exacerbates endothelial dysfunctions partly via endothelial-mesenchymal transition in streptozotocin-induced diabetes rats. *J Periodontal Res.* 2022; 57 (3): 660-669. doi: 10.1111/jre.12994.
328. Yokoyama M, Atsumi T, Sasaki K. Dynamic changes in bone metabolism in the rat temporomandibular joint after molar extraction using bone scintigraphy. *European Journal of Oral Sciences.* 2009; 117(4): 374-379.
329. Zhang P, Zhang W, Zhang D, Wang M, Aprecio R, Ji N. 25- Hydroxyvitamin D3-enhanced PTPN2 positively regulates periodontal inflammation through the JAK/STAT pathway in human oral keratinocytes and a mouse model of type 2 diabetes mellitus. *J Periodont Res.* 2018; 53: 467–477. doi: 10.1111/jre.12535.
330. Zhang X, Wang M, Wang X, Qu H, Zhang R, Gu J, Wu Y, Ni T, Tang W, Li Q. Relationship between periodontitis and microangiopathy in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *J Periodontal Res.* 2021; 56 (6): 1019-1027. doi: 10.1111/jre.12916.
331. Zhang YD, Zhao SC, Zhu ZS, Wang YF, Liu JX, Zhang ZC. Cx43- and smad-mediated TGF-beta/ BMP signaling pathway promotes cartilage differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells and inhibits osteoblast differentiation. *Cell Physiol Biochem.* 2017; 42: 1277–1293. doi: 10.1159/000478957.
332. Zheng M, Wang C, Ali A, Shih YA, Xie Q, Guo C. Prevalence of periodontitis in people clinically diagnosed with diabetes mellitus: a meta-analysis of epidemiologic studies. *Acta Diabetol.* 2021; 58 (10): 1307-1327. doi: 10.1007/s00592-021-01738-2.
333. Zhu K, Oddy WH, Holt P, Ping-Delfos WCS, Mountain J, Lye S. Tracking of vitamin D status from childhood to early adulthood and its association with peak bone mass. *Am J Clin Nutr.* 2017; 106: 276–283. doi: 10.3945/ajcn.116.150524.
334. Zhu Y, Wang PP, Zhai G, Bapat B, Savas S, Woodrow JR. Association of rs2282679 A>C polymorphism in vitamin D binding protein gene with colorectal cancer

risk and survival: effect modification by dietary vitamin D intake. *BMC Cancer*. 2018; 18: 155. doi: 10.1186/s12885-018-4026-1.

335. Ziukaite L, Slot DE, Cobb CM, Coucke W, Van der Weijden GA. Prevalence of diabetes among patients diagnosed with periodontitis: A retrospective cross-sectional study. *Int J Dent Hyg*. 2018; 16 (2): 305-311. doi: 10.1111/idh.12280.

336. Ziukaite L, Slot DE, Van der Weijden FA. Prevalence of diabetes mellitus in people clinically diagnosed with periodontitis: A systematic review and meta-analysis of epidemiologic studies. *J Clin Periodontol*. 2018; 45(6): 650-662. doi: 10.1111/jcpe.12839.

# ДОДАТКИ

## Додаток А

### Акти впровадження

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Проректор з наукової роботи

Дніпровського державного

медичного університету,

д. мед. н., професор

Олександр Гудар'ян



08 2022 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** комплексне лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням препаратів стронцію у хворих на цукровий діабет 2 типу.

2. **Ким та коли запропонований:** Дніпровський державний медичний інститут, кафедра терапевтичної стоматології, професор Самойленко А. В., асистент Матвєєнко Л. М.

3. **Джерело інформації:** Самойленко АВ, Матвєєнко ЛМ. Результати клінічної апробації комплексного лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням препаратів стронцію у хворих на цукровий діабет 2 типу. Український стоматологічний альманах. 2021; 3: 37-43.

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

5. **Термін впровадження:** 2020/2021 н. р.

6. **Форма впровадження:** у навчально-педагогічний процес зі студентами 3-5 курсів стоматологічного факультету та лікарями-інтернами

7. **Ефективність впровадження:** матеріали використовуються при проведенні практичних занять, присвячених питанням комплексного лікування хворих на генералізований пародонтит, що дозволяє підвищити рівень оволодіння практичними навичками з даного розділу терапевтичної стоматології.

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

**Відповідальна за впровадження особа:**

Відповідальний за навчальний процес  
на кафедрі терапевтичної стоматології,  
доцент, к. мед. н.

Вадим Орищенко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
Головний лікар  
ВСП «Університетська  
клініка» ДДМУ

Барсуков В. М.  
« 31 » 08 2022 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва впровадження: комплексне лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням препаратів стронцію у хворих на цукровий діабет 2 типу
2. Установа-розробник: Дніпровський державний медичний університет, кафедра терапевтичної стоматології
3. Джерело інформації: Самойленко АВ, Матвеєнко ЛМ. Результати клінічної апробації комплексного лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням препаратів стронцію у хворих на цукровий діабет 2 типу. Український стоматологічний альманах. 2021; 3: 37-43.
4. Автор: Самойленко А. В., Матвеєнко Л. М.
5. Впроваджено в стоматологічному відділенні ВСП «Університетська клініка» ДДМУ
6. Термін впровадження: квітень 2021 р. – серпень 2022 р.
7. Загальна кількість спостережень: 18.
8. Ефективність впровадження відповідно до критеріїв, викладених у джерелі інформації про впровадження:

| Показники                                                             | За даними                            |                            |
|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
|                                                                       | авторів, які пропонують впровадження | організації, що впровадила |
| Збільшення терміну клініко-рентгенологічної стабілізації захворювання | на 16,7%                             | на 22,2 %                  |

9. Зауваження та пропозиції : – .

Відповідальний за впровадження:

*Кривчук*

Олексій Кривчук



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар

ФОП Роменський В.А.

Роменський В.А.

«31» 08 2022 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва впровадження: комплексне лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням препаратів стронцію у хворих на цукровий діабет 2 типу

2. Установа-розробник: Дніпровський державний медичний університет, кафедра терапевтичної стоматології

3. Джерело інформації: Самойленко АВ, Матвєєнко ЛМ. Результати клінічної апробації комплексного лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням препаратів стронцію у хворих на цукровий діабет 2 типу. Український стоматологічний альманах. 2021; 3: 37-43.

4. Автор: Самойленко А. В., Матвєєнко Л. М.

5. Впроваджено в стоматологічній клініці ФОП Роменський В. А.

6. Термін впровадження: квітень 2021 р. – серпень 2022 р.

7. Загальна кількість спостережень: 9.

8. Ефективність впровадження відповідно до критеріїв, викладених у джерелі інформації про впровадження:

| Показники                                                             | За даними                            |                            |
|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
|                                                                       | авторів, які пропонують впровадження | організації, що впровадила |
| Збільшення терміну клініко-рентгенологічної стабілізації захворювання | на 16,7%                             | на 11,1 %                  |

9. Зауваження та пропозиції : – .

Відповідальний за впровадження:

Ігор Решетняк

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор

Медичного центру

Дніпровського державного

медичного університету,

к. мед. н., доцент



Сергій Ширінкін

«01» 09 2022 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва впровадження: комплексне лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням препаратів стронцію у хворих на цукровий діабет 2 типу

2. Установа-розробник: Дніпровський державний медичний університет, кафедра терапевтичної стоматології

3. Джерело інформації: Самойленко АВ, Матвеєнко ЛМ. Результати клінічної апробації комплексного лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням препаратів стронцію у хворих на цукровий діабет 2 типу. Український стоматологічний альманах. 2021; 3: 37-43.

4. Автор: Самойленко А. В., Матвеєнко Л. М.

5. Впроваджено в медичному центрі ДДМУ

6. Термін впровадження: квітень 2021 р. – серпень 2022 р.

7. Загальна кількість спостережень: 31.

8. Ефективність впровадження відповідно до критеріїв, викладених у джерелі інформації про впровадження:

| Показники                                                             | За даними                            |                            |
|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
|                                                                       | авторів, які пропонують впровадження | організації, що впровадила |
| Збільшення терміну клініко-рентгенологічної стабілізації захворювання | на 16,7%                             | на 16,1 %                  |

9. Зауваження та пропозиції : – .

Відповідальний за впровадження:

Інна Романюта

## Додаток В

### СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

***Список наукових праць, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:***

1. Matvieienko LM, Matvieienko RY, Fastovets OO. Effects of strontium ranelate on alveolar bone in rats with experimental diabetes mellitus. Wiadomosci Lekarskie. 2022; 75 (1 p.2): 151-155. doi: 10.36740/WLek202201201.
2. Матвєєнко ЛМ. Мінеральні щільність та хімічний склад нижньощелепних кісток щурів в експериментальних моделях генералізованого пародонтиту. Медичні перспективи. 2022; 27 (2): 16-22. doi: 10.26641/2307-0404.2022.2.260058.
3. Самойленко АВ, Матвєєнко ЛМ. Результати клінічної апробації комплексного лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням препаратів стронцію у хворих на цукровий діабет 2 типу. Український стоматологічний альманах. 2021; 3: 37-43.

***Список наукових праць, які додатково відображають наукові результати дисертації:***

4. Патент України на корисну модель № 138066 G 09 B 23/28, A 61 P 31/00, A 61 K 6/06. Спосіб моделювання пародонтиту з ураженням сполучної тканини пародонта / Матвєєнко ЛМ, Самойленко АВ, Жилюк ВІ, Матвєєнко РЮ, Харченко ЮВ. № 2019 01329; заявл. 11.02.2019; опубл. 25.11.2019, Бюл. № 22.

***Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:***

5. Матвєєнко ЛМ. Щодо проблеми створення експериментальної моделі пародонтиту. Зб. наук. праць V міжнародн. наук.-практ. конф. «Стоматологія Придніпров'я». Україна, Дніпропетровськ-Запоріжжя. 2019. С.121-123.

6. Matvieienko L. Effect of strontium ranelate on alveolar bone in rats with experimental general periodontitis. Collection of scientific works “Modern scientific challenges and trends”. Poland, Warshava. 2020. P. 46-48.
7. Matvieienko LM. The comparative study of two experimental models of generalized periodontitis in rats. International Scientific and Practical Conference “Medicine and Health Care: topical issues and current aspects”. Respublic of Poland, Lublin. 2021. P. 105-108.doi: 10.30525/978-9934-26-038-4-28.
8. Матвеєнко ЛМ. Результати вивчення мінерального складу нижньощелепних кісток щурів при експериментальному пародонтиті. Мат. ХХІ наук. конф. студентів та молодих вчених «Новини і перспективи медичної науки». Україна, Дніпро. 2021. С. 87.
9. Матвеєнко ЛМ, Матвеєнко РЮ. Експериментальне обґрунтування застосування препаратів стронцію при лікуванні генералізованого пародонтиту на тлі цукрового діабету другого типу. Мат. наук.-практ.конф. з міжнародн. участю «Інноваційні технології в сучасній стоматології». Україна, Івано-Франківськ. 2021. С.102-104.