

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНА СТОМАТОЛОГІЯ

УДК 616.314+616.71:611.08+599.323.4
DOI <https://doi.org/10.35220/2078-8916-2024-51-1.5>

В.В. Гороховський,

кандидат медичних наук, доцент,
доцент кафедри стоматології дитячого віку,
Одеський національний медичний університет,
Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна, індекс
65082, gorohovskiyvv@ukr.net

О.В. Денга,

доктор медичних наук, професор,
Державна установа «Інститут стоматології
та щелепно-лицевої хірургії Національної академії
медичних наук України»,
вул. Рішельєвська, 11, м. Одеса, Україна, індекс 65026

ВПЛИВ МОДЕЛЮВАННЯ ЗАТРИМКИ ТА РАНЬОГО ПРОРІЗУВАННЯ ЗУБІВ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПУЛЬПИ ТА КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЩЕЛЕП ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

Мета дослідження. Вивчення зміни активності ферментів пульпи зубів та кісткової тканини щелеп щурів при моделюванні затримки та раннього прорізування зубів. **Матеріали та методи.** Експериментальні дослідження виконані на 20 білих лабораторних щурах-самках та 37 щурятах, які були народжені від них. В залежності від використаних препаратів, тварин розподілили на 4 групи: 1. Інтактна (дієта віварію); 2. Дієта віварію + L- тироксин в дозі 10 мг/кг; 3. Дієта віварію + Антибіотики (цефоперазон 180 мг/кг – вагітність, амоксиклав 135 мг/кг – лактація); 4. Дієта віварію + Мерказоліл – (20 мг/кг – вагітність), (50 мг/кг – лактація). Починаючи з першого дня введення препаратів, до самок підсаджували самців. У щурів другої групи моделювали стан експериментального гіпертиреозу шляхом щоденного перорального введення препарату L-тироксин («Берлін-Хемі», Німеччина) у дозі 10 мг/кг маси тіла щоденно протягом вагітності та лактації. Введення антибіотиків у 3-ої групи щурів проводили за наступною схемою: два курси цефоперазону, який вводили перорально у дозі 180 мг/кг з першого дня експерименту протягом 6 днів. У щурів 4-ої групи моделювали стан експериментального гіпотиреозу шляхом перорального введення препарату Мерказоліл. Протягом вагітності щури отримували препарат у дозі 20 мг/кг щоденно, протягом лактації дозу збільшували до 50 мг/кг. Подальші дослідження проводили на щурятах, які були народжені від самок, що отримували різні препарати. **Результати дослідження.** З отриманих нами даних видно, що рівень активності лізоциму – показника неспецифічного антимікробного захисту, в пульпі різців 2-ї групи достовірно

зменшився на 91,3 % ($P < 0,001$), в 3-й – на 99,4 % ($P < 0,001$) відносно інтактної групи, а в 4-й – взагалі був відсутній. Це свідчить про негативний вплив на лізоцимсинтезуючу функцію пульпи зубів тварин та практично про пригнічення неспецифічного імунітету та антимікробного захисту. **Висновки.** Результати проведених досліджень свідчать про порушення мінералізуючої функції пульпи з переважанням активності одонтокластів у щурів при моделюванні затримки та раннього прорізування зубів. Отримані результати вказують на гальмування процесів кісткоутворення в щелепах тварин при моделюванні затримки та раннього прорізування зубів.

Ключові слова: прорізування зубів, антибіотики, тиреоїдні гормони, ферменти.

V.V. Horokhovskiy,

PhD (Medicine), Associate Professor,
Senior Lecturer at the Department of Paediatric Dentistry,
Odessa National Medical University,
2 Volkhovsky lane, Odessa, Ukraine, postal code 65082,
gorohovskiyvv@ukr.net

O.V. Denga,

Doctor of Medical Sciences, Professor,
State Institution "Institute of Dentistry and Maxillofacial
Surgery of the National Academy
of Medical Sciences of Ukraine",
11 Richelevskaya street, Odessa, Ukraine, postal code 65026

EFFECT OF MODELING DELAYED AND EARLY TEETHING ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF JAW PULP AND BONE TISSUE IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Purpose of the study. Study of changes in the activity of rat pulp and jaw bone enzymes in models of delayed and early teething. **Materials and methods.** Experimental studies were performed on 20 white laboratory female rats and 37 pups that were born to them. Depending on the drugs used, the animals were divided into 4 Groups: 1. intact (vivarium diet); 2. vivarium diet + L – thyroxine at a dose of 10 mg/kg; 3. vivarium diet + antibiotics (cefoperazone 180 mg/kg – pregnancy, amoxiclav 135 mg/kg – lactation); 4. vivarium diet + Mercazolil – (20 mg/kg – pregnancy), (50 mg/kg – lactation). Starting from the first day of Drug Administration, males were hooked up to females. In rats of the second group, the state of experimental hyperthyroidism was modeled by daily oral administration of L-thyroxine (Berlin-Chemi, Germany) at a dose of 10 mg/kg of body weight daily during pregnancy and lactation. The administration of antibiotics in the 3rd group of rats was carried out according to the following scheme: two courses of cefoperazone, which was administered orally at a dose of 180 mg/kg from the first day of the experiment

for 6 days. Experimental hypothyroidism was modeled in Group 4 rats by oral administration of Mercazolil. During pregnancy, rats received the drug at a dose of 20 mg/kg daily, during lactation the dose was increased to 50 mg/kg. Further studies were conducted on rat pups that were born to females receiving various drugs. **Research results.** From the data obtained by us, it can be seen that the level of activity of lysozyme – an indicator of non-specific antimicrobial protection, in the pulp of incisors of the 2nd Group significantly decreased by 91.3 % ($P < 0.001$), in the 3rd-by 99.4 % ($P < 0.001$) relative to the Intact Group, and in the 4th – was absent altogether. This indicates a negative effect on the lysozyme-synthesizing function of animal tooth pulp and practically suppresses non-specific immunity and antimicrobial protection. **Conclusions.** The results of the conducted studies indicate a violation of the mineralizing function of the pulp with a predominance of odontoclast activity in rats when modeling delayed and early teething. The results obtained indicate inhibition of bone formation processes in the jaws of animals when modeling delayed and early teething.

Key words: teething, antibiotics, thyroid hormones, enzymes.

Прорізування – це складний фізіологічний процес який починається ще у внутрішньоутробному періоді [1, 2, 3]. Цей процес тісно пов'язаний з розвитком щелепно-лицевої ділянки дитини, тому потребує особливої уваги [4].

Затримка та раннє прорізування зубів – це досить поширені проблеми стоматології, які можуть призвести до розвитку захворювань порожнини рота. Серед них слід відмітити карієс, гіпоплазію, запальні процеси тканин пародонту та ортодонтичну патологію. Порушення термінів прорізування може виникати внаслідок дії екзогенних або ситемних факторів. До них відносять генетичні аномалії, ендокринні захворювання, порушення обміну речовин та інші [5, 6].

З метою дослідження механізму впливу факторів що впливають на розвиток зубів та патологічних змін що лежать в основі порушення термінів прорізування зубів, необхідна розробка експериментальних моделей на лабораторних тваринах. На таких моделях можуть бути досліджені зміни, що відбуваються в порожнині рота при затримці або ранньому прорізуванні зубів, вивчені особливості формування твердих тканин зубів та особливості процесу їх мінералізації. Поглиблене дослідження процесу порушення прорізування зубів допоможе розробити ефективні лікувально-профілактичні комплекси та сучасні методи лікування основних стоматологічних захворювань, що дасть змогу в майбутньому зменшити супутні патологічні прояви цього процесу та покращити загальний стан здоров'я дітей.

Таким чином, дослідження цієї проблеми є важливим аспектом збереження здоров'я дітей

та розробки ефективних методів лікування та профілактики захворювань порожнини рота. Тому необхідно приділяти достатньо уваги та часу вивченню цієї теми.

Мета дослідження. Вивчення зміни активності ферментів пульпи зубів та кісткової тканини щелеп щурів при моделюванні затримки та раннього прорізування зубів.

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження виконані на 20 білих лабораторних щурах-самках та 37 щурятах, які були народжені від них. В залежності від використаних препаратів, тварин розподілили на 4 групи:

1. Інтактна (дієта віварію);
2. Дієта віварію + L- тироксин в дозі 10 мг/кг;
3. Дієта віварію + Антибіотики (цефоперазон 180 мг/кг – вагітність, амоксиклав 135 мг/кг – лактація);
4. Дієта віварію + Мерказоліл – (20 мг/кг – вагітність), (50 мг/кг – лактація).

Починаючи з першого дня введення препаратів, до самок підсаджували самців. У щурів другої групи моделювали стан експериментального гіпертиреозу шляхом щоденного перорального введення препарату L-тироксин («Берлін-Хемі», Німеччина) у дозі 10 мг/кг маси тіла щоденно протягом вагітності та лактації.

Введення антибіотиків у 3-ої групи щурів проводили за наступною схемою: два курси цефоперазону (ТОВ «АВАНТ», Україна), який вводили перорально у дозі 180 мг/кг з першого дня експерименту протягом 6 днів, після 8 днів перерви проводили другий курс. Після 8 днів перерви щурам проводили два курси амоксиклаву («Лек», Словенія) в дозі 135 мг/кг. Цей період збігся з пологами, тобто під час лактації щури отримували два курси амоксиклаву. Всього було проведено чотири курси антибіотикотерапії з трьома перервами. Використовували ін'єкційну форму антибіотиків, які добре розчинялись. Дози антибіотиків корелювали з терапевтичними дозам для людини.

У щурів 4-ої групи моделювали стан експериментального гіпотиреозу шляхом перорального введення препарату Мерказоліл (ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна). Протягом вагітності щури отримували препарат у дозі 20 мг/кг щоденно, протягом лактації дозу збільшували до 50 мг/кг.

Подальші дослідження проводили на щурятах, які були народжені від самок, що отримували різні препарати. Групи були відповідними:

1. Інтактна (дієта віварію), n =7.

2. Дієта віварію + L-тироксин, n =12.
3. Дієта віварію + Антибіотики, n =11.
4. Дієта віварію + Мерказоліл, n =7.

Щурят виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) після періоду лактації приблизно у віці 35 днів. Загальна тривалість експерименту склала 56 днів. Протягом експерименту у щурят визначалась дата початку прорізування зубів та ступінь їх прорізування. В результаті досліджень у щурів другої групи виявлено раннє прорізування зубів, у щурів третьої та четвертої групи – затримка прорізування зубів. У щурів всіх груп проводився біохімічний аналіз ферментів пульпи зубів та кісткової тканини щелеп.

При роботі з тваринами керувалися Законом України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009 р.) з урахуванням правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях.

Результати дослідження. В таблиці 1 представлено результати дослідження активності фосфатаз та лізоциму в пульпі зубів всіх досліджуваних тварин. З отриманих даних видно, що рівень активності лізоциму – показника неспецифічного антимікробного захисту, в пульпі різців 2-й групи достовірно зменшився на 91,3 % (P<0,001), в 3-й – на 99,4 % (P<0,001) відносно інтактної групи, а в 4-й – взагалі був відсутній (табл. 1). Це свідчить про негативний вплив на лізоцимсинтезуючу функцію пульпи зубів тварин та практично про пригнічення неспецифічного імунітету та антимікробного захисту.

В гомогенатах пульпи визначали також активність кислої та лужної фосфатаз (КФ і ЛФ) – мар-

кери одонтобластів та одонтокластів, відповідно. В пульпі 2-й групи тварин спостерігали тенденцію до підвищення активності лужної фосфатази (0,05<P<0,1), в пульпі 3-й – тенденцію до зниження цього показника на 16,7 % (0,05<P<0,1) та в пульпі 4-й групи відбулося достовірне його зниження на 22,4 % (P<0,02, табл. 1). Зменшення активності ЛФ у пульпі зубів говорить про пригнічення мінералізуючої функції пульпи під впливом антибіотиків, і особливо мерказолілу, які отримували щури на ранніх стадіях онтогенезу.

Одночасно у пульпі різців усіх дослідних груп відбулося достовірне підвищення активності КФ: після L-тироксину у 1,5 рази (P < 0,001), після антибіотиків – у 1,7 рази (P<0,001), після мерказолілу – у 1,3 рази (P<0,02, табл. 1). Висока активність КФ у пульпі свідчить про посилення демінералізуючої дії пульпи зубів тварин, матерям яких вводили антибіотики або при порушенні у них тиреоїдної функції.

Таким чином, надані результати свідчать про порушення мінералізуючої функції пульпи з переважанням активності одонтокластів під впливом досліджуваних лікарських препаратів, які вводили вагітним та лактуючим самкам.

В кістковій тканині щелеп у досліджуваних щурів визначали активність еластази (маркер запалення), лужної та кислої фосфатаз (ЛФ і КФ) – маркерів кісткоутворення та резорбції кісткової тканини, і концентрацію кальцію (табл. 2).

За результатами біохімічного аналізу було виявлено достовірне підвищення рівню маркеру резорбції кісткової тканини щелеп (КФ) в 2-й, 3-й та 4-й групах. В щелепах тварин, які в ранні строки онтогенезу L-тироксин, значення активності КФ достовірно збільшилося у 1,3 рази

Таблиця 1

Показники активності фосфатаз та антимікробного захисту в пульпі експериментальних тварин

| № | Групи щурів | Активність лізоциму, од/г | Активність КФ, мкат/кг | Активність ЛФ, нкат/кг |
|---|---|---------------------------|------------------------|-------------------------|
| 1 | Інтактна (дієта віварію), n = 7 | 1,44±0,08 | 33,37±2,10 | 1,74±0,10 |
| 2 | Дієта віварію + L-тироксин (раннє прорізування), n=12 | 0,125±0,07 P<0,001 | 51,39±4,20 P<0,001 | 2,06±0,12 0,05<P<0,1 |
| 3 | Дієта віварію + Антибіотики (затримка прорізування), n=11 | 0,008±0,0001 P<0,001 | 56,92±3,65 P<0,001 | 1,45±0,10 0,05<P<0,1 |
| 4 | Дієта віварію + Мерказоліл (затримка прорізування), n = 7 | 0,001±0,0001 P<0,001 | 42,78±3,15 P<0,02 | 1,35±0,10 P<0,02 |

Примітка: P – показник достовірності відмінностей з інтактною групою.

**Показники ремоделювання та концентрації кальцію
в кістковій тканині щелеп експериментальних тварин**

| № | Групи щурів | Активність КФ, мк-кат/кг | Активність ЛФ, мк-кат/кг | Концентрація кальцію, ммоль/г | Активність еластази, мк-кат/кг |
|---|---|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| 1 | Інтактна (дієта віварію), n = 7 | 4,23±0,24 | 87,58 ± 3,14 | 3,50 ± 0,20 | 23,99 ± 1,72 |
| 2 | Дієта віварію + L-тироксин (раннє прорізування), n=12 | 5,53±0,27 P<0,002 | 60,09±3,22 P<0,001 | 3,41±0,21 P>0,8 | 31,88±1,78 P<0,01 |
| 3 | Дієта віварію + Антибіотики (затримка прорізування), n=11 | 6,60±0,92 P<0,02 | 60,94±2,47 P<0,001 | 3,65±0,19 P>0,7 | 37,55±1,90 P<0,001 |
| 4 | Дієта віварію + Мерказоліл (затримка прорізування), n = 7 | 7,14±0,61 P<0,001 | 47,24±5,51 P<0,001 | 3,11±0,18 P>0,2 | 34,14±1,75 P<0,001 |

Примітка: P – показник достовірності відмінностей з інтактною групою.

(P<0,002, табл. 2) в порівнянні з інтактною групою. У кістковій тканині альвеолярного відростку тварин, матерям яких вводили антибіотики, активність КФ підвищилася у 1,6 рази (P<0,02). В щелепах щурів 4-й групи (Мерказоліл) цей маркер резорбції достовірно збільшився в 1,7 рази (P<0,001, табл. 2).

Активність лужної фосфатази (ЛФ) у кістковій тканині альвеолярного відростку щурів 2-й групи достовірно зменшилась на 31,4 % (P<0,001), 3-й групи – на 30,4 % (P<0,001) та 4-й групи – на 45,1 % (P<0,001) у порівнянні з показником інтактною групи (табл. 2).

Отримані результати вказують на гальмування процесів кісткоутворення в щелепах тварин, які в антенатальний та ранні строки постнатального періодів розвитку отримували L-тироксин, антибіотики або мерказоліл. Слід звернути увагу, що найбільш суттєве зниження активності ЛФ поряд із збільшенням активності КФ зареєстровано у кістковій тканині щелеп 4-ої групи щурів, матерям яких вводили мерказоліл.

Активність еластази – маркеру руйнування органічної частини кісткової тканини у альвеолярній кістці всіх досліджуваних груп достовірно збільшувалась: у 2-й у 1,3 рази, у 3-й – у 1,6 рази та у 4-й – у 1,4 рази (P<0,01 – 0,001, табл. 6). Отримані дані свідчать про руйнування колагену кісткової тканини в альвеолярному відростку щурів, які в ранні періоди онтогенезу тривало знаходилися під впливом надлишку або дефіциту тиреоїдних гормонів, а також антибіотиків. Загалом у кістковій тканині тварин, що спостерігалися, встановлено порушення процесів ремоделювання, а саме зниження інтенсивності процесів

мінералізації та одночасно активація процесів резорбції як мінеральної, так і органічної частини кісткової тканини.

Проведене дослідження не виявило суттєвих змін в значеннях концентрації кальцію кісткової тканини щелеп усіх експериментальних груп (табл. 2).

Висновки. 1. Результати проведених досліджень свідчать про порушення мінералізуючої функції пульпи з переважанням активності одонтокластів у щурів при моделюванні затримки та раннього прорізування зубів. 2. Отримані результати вказують на гальмування процесів кісткоутворення в щелепах тварин при моделюванні затримки та раннього прорізування зубів.

Література:

1. Мельник В. С., Горзов Л. Ф., Зомбор К. В. Терміни формування тимчасового і постійного прикусу у дітей Ужгорода. *Український стоматологічний альманах*. 2018. №(1). С. 60-63.
2. Smaglyuk L.V., Chukhray N.L., Bezvushko E.V., Miskiv A.L., Shpotyuk O.O. The relationship of malocclusions with the eruption time of permanent teeth in children living in different climatic and geographical conditions. *Світ медицини та біології*. 2020. № 16(1) (71). P. 132-136.
3. Міськів А. Л., Безвужко Е. В. Терміни прорізування постійних зубів у ранньому змінному прикусі у дітей Львівської області. *Вісник проблем біології і медицини*. 2015. № 4 (1). С. 300-303.
4. Brecher E.A., Lewis C.W. Infant Oral Health. *Pediatr Clin North Am*. 2018. № 65(5). P. 909-921. doi: 10.1016/j.pcl.2018.05.016. PMID: 30213353.
5. Годованець О.І., Рожко М.М. Особливості становлення зубощелепної системи у дітей із дифузним

нетоксичним зобом. *Вісник проблем біології і медицини*. 2015. № 2(2). С. 37-40.

6. Kreiborg S., Jensen B.L. Tooth formation and eruption – lessons learnt from cleidocranial dysplasia. *Eur J Oral Sci*. 2018. № 126(1). P. 72-80. doi: 10.1111/eos.12418

References:

1. Mel'nyk, V. S., Gorzov, L. F., & Zombor, K. V. (2018). Terminy formuvannja tymchasovogo i postijnogo prykusu v ditej Uzhgoroda. [Terms of formation of temporary and permanent bite in children of Uzhgorod]. *Ukrai'ns'kyj stomatologichnyj al'manah – Ukrainian dental Almanac*, (1), 60-63 [in Ukrainian].

2. Smaglyuk, L.V., Chukhray, N.L., Bezvushko, E.V., Miskiv, A.L., & Shpotyuk, O.O. (2020). The relationship of malocclusions with the eruption time of permanent teeth in children living in different climatic and geographical conditions. *Svit medycyny ta biologii' – The world of Medicine and biology*. 16(1 (71), 132-136.

3. Mis'kiv, A. L., & Bezvushko, E. V. (2015). Terminy prorizuvannja postijnyh zubiv u rann'omu zminnomu prykusi u ditej L'vivs'koi' oblasti [Terms of eruption of permanent teeth in early variable bite in children of Lviv region]. *Visnyk problem biologii' i medycyny – Bulletin of problems of biology and medicine*, 4 (1), 300-303 [in Ukrainian].

4. Brecher E.A., & Lewis C.W. (2018). Infant Oral Health. *Pediatr Clin North Am.*, 65(5), 909-921. doi: 10.1016/j.pcl.2018.05.016.

5. Godovanec', O.I., & Rozhko, M.M. (2015). Osoblyvosti stanovlennja zuboshhelepnoi' systemy u ditej iz dyfuznym netoksychnym zobom [Features of the formation of the maxillary system in children with diffuse non-toxic goiter]. *Visnyk problem biologii' i medycyny – Bulletin of problems of biology and medicine*, 2(2), 37-40 [in Ukrainian].

6. Kreiborg, S., & Jensen, B.L. (2018). Tooth formation and eruption – lessons learnt from cleidocranial dysplasia. *Eur J Oral Sci.*, 126(1), 72-80. doi: 10.1111/eos.12418