

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНА СТОМАТОЛОГІЯ

УДК 616.716.8:611.08+599.323.4

DOI <https://doi.org/10.35220/2523-420X/2023.2.1>

**Г.О. Бабеня,**

кандидат медичних наук, старший науковий співробітник, заступник директора з наукової роботи, Державна установа «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії Національної академії медичних наук України», вул. Рішельєвська, 11, м. Одеса, Україна, індекс 65026, [annababeny@gmail.com](mailto:annababeny@gmail.com)

**І.В. Гаращук,**

лікар-стоматолог, Державна установа «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії Національної академії медичних наук України», вул. Рішельєвська, 11, м. Одеса, Україна, індекс 65026, [igor.garashchuk@gmail.com](mailto:igor.garashchuk@gmail.com)

### ВПЛИВ МОДЕЛЮВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ДЕМЕНЦІЇ НА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ТА ПОКАЗНИКИ АТРОФІЇ ЩЕЛЕП У ЩУРІВ

**Мета дослідження.** Оцінка впливу алюмінієвої інтоксикації на когнітивні властивості щурів та показники атрофічних процесів у тканинах пародонту експериментальних тварин. **Матеріали та методи дослідження.** Експериментальні дослідження проведені згідно вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» та Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах з дотриманням біоетичних норм. Експеримент було проведено на 16 самцях білих щурів, що були розділені на 2 групи: 1 група – інтактні тварини ( $n = 8$ ); 2 група – введення водного розчину  $AlCl_3$  (моделювання деменції) ( $n = 8$ ). Щурів утримували в стандартних умовах віварію при сталій температурі та вологості повітря. **Результати досліджень та їх обговорення.** Маса щурів в групах складала у середньому 258,5 г на початку експерименту та зростала під кінець експерименту. Було вивчено особливості поведінкових реакцій щурів усіх груп у лабіринті Барнса із застосуванням сторонніх подразників. Досліджено ступінь резорбтивних процесів у тканинах пародонта щурів. Було також досліджено вплив алюмінієвої інтоксикації на показники атрофії альвеолярного відростка експериментальних щурів. **Висновки.** Показано, що тривала інтоксикація хлоридом алюмінію у щурів призвела до підвищення кількості помилок у 1,5 рази, часу проходження лабіринту у 2,2 рази порівняно з контролем. Спостерігали зміну стратегії пошуку «рятівної» лунки від «послідовної» до «випадкової» протягом періоду досліджень, що підтверджує

відтворення у щурів експериментальної деменції. Встановлено достовірне збільшення ступеня атрофії альвеолярного відростка щелеп щурів на 17,1% в умовах інтоксикації експериментальних щурів хлоридом алюмінію, що обґрунтовує необхідність використання лікувально-профілактичних засобів пародонтопротекторної дії.

**Ключові слова:** щури, інтоксикація, деменція, поведінкові реакції, захворювання пародонту, ступінь атрофії щелеп.

**Н.О. Babenia,**

Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Deputy Director for Scientific Work, State Establishment "The Institute of Stomatology and Maxillo-Facial Surgery National Academy of Medical Sciences of Ukraine", 11 Rysheliyevska street, Odesa, Ukraine, postal code 65026, [annababeny@gmail.com](mailto:annababeny@gmail.com)

**I.V. Harashchuk,**

Dentist, State Institution "Institute of Stomatology and Maxillofacial Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", 11 Rysheliyevska street, Odesa, Ukraine, postal code 65026, [igor.garashchuk@gmail.com](mailto:igor.garashchuk@gmail.com)

### THE INFLUENCE OF EXPERIMENTAL DEMENTIA ON BEHAVIORAL REACTIONS AND INDICATORS OF JAW ATROPHY IN RATS

**Purpose of the study.** Evaluation of the effect of aluminum intoxication on the cognitive properties of rats and indicators of atrophic processes in periodontal tissues of experimental animals. **Materials and methods of research.** Experimental studies were conducted in accordance with the requirements of the law of Ukraine "on the protection of animals from ill-treatment" and the procedure for conducting experiments and experiments on animals by scientific institutions in compliance with bioethical standards. The experiment was conducted on 16 male white rats, which were divided into 2 groups: Group 1 – intact animals ( $n = 8$ ); Group 2 – administration of an aqueous solution of  $AlCl_3$  (dementia simulation) ( $n = 8$ ). Rats were kept in a standard vivarium under constant temperature and humidity. **Research results and their discussion.** The average weight of rats in the groups was 258.5 G at the beginning of the experiment and increased at the end of the experiment. The features of behavioral responses of rats of all groups in the Barnes maze using extraneous stimuli were studied. The degree of resorptive processes in rat periodontal tissues was studied. The effect of aluminum intoxication on the indicators of alveolar process atrophy in experimental rats was also studied. **Conclusions.** It was shown that prolonged intoxication

with aluminum chloride in rats led to an increase in the number of errors by 1.5 times, the time of passage of the maze by 2.2 times compared to the control. During the study period, a change in the search strategy for the "rescue" well was observed from "sequential" to "random", which confirms the reproduction of experimental dementia in rats. A significant increase in the degree of atrophy of the alveolar process of the jaws of rats by 17.1% in conditions of intoxication of experimental rats with aluminum chloride was established, which justifies the need to use therapeutic and preventive agents of periodontal protective action.

**Key words:** rats, intoxication, dementia, behavioral reactions, periodontal disease, degree of jaw atrophy.

Хвороба Альцгеймера (ХА) є найпоширенішою формою деменції у людей похилого віку та має руйнівний вплив на якість життя пацієнта, що створює значний соціально-економічний тягар для постраждалих осіб та їхніх родин [1].

Існує багато теорій, які намагаються пояснити розвиток ХА. В останні роки в доступній літературі мова часто йде про інфекційне походження хвороби Альцгеймера за участі оральної мікробіоти [2; 3]

Епідеміологічні дослідження виявили зв'язок між пародонтитом і хворобою Альцгеймера (ХА), однак природа цієї асоціації досі не встановлена [4].

Є дослідження, об'єктами якого стали чоловіки і жінки старше 70 років. Зіставляючи когнітивні функції у людей 50 і 70 років, вчені виявили, що пародонтит у 70-річному віці асоціюється з низькими результатами когнітивних тестів. Навіть після врахування таких факторів, як ожиріння, куріння і втрата зубів, яка не пов'язана з пародонтитом, результати залишилися достовірними: низькі оцінки за когнітивним тестів асоціюються із запаленням ясен [3; 5].

**Мета роботи.** Дослідження впливу алюмінієвої інтоксикації на когнітивні властивості щурів

та показники атрофічних процесів у тканинах пародонту експериментальних тварин.

**Матеріали та методи дослідження.** Експериментальні дослідження проведені згідно вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» [6] та Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах [7] з дотриманням біоетичних норм.

Експеримент було проведено на 16 самцях білих щурів, що були розділені на 2 групи: 1 група – інтактні тварини (n = 8); 2 група – введення водного розчину  $AlCl_3$  (моделювання деменції) (n = 8). Щурів утримували в стандартних умовах виварію при сталій температурі та вологості повітря.

З метою моделювання експериментальної деменції щурам 2-ї та 3-ї груп пероральним шляхом вводили 0,5 мл 12% розчину  $AlCl_3 \times 6H_2O$  (80 мг Al/kg) протягом двох місяців.

На 60 добу алюмінієвої інтоксикації вивчали особливості поведінкових реакцій щурів усіх груп у лабіринті Барнса із застосуванням сторонніх подразників (яскраве світло та гучний звук).

Лабіринт Барнса дозволяє оцінити процеси навчання і пам'яті, використовуючи просторову навігацію. Модель базується на неприйнятті гризунами відкритих просторів, що мотивує їх шукати притулок в евакуаційній коробці.

Лабіринт має наступну будову (рис. 1). Отвори розташовані на однаковій відстані один від одного і від центру по периметру арени. «Рятувальна» лунка встановлена під одним з отворів, в той час як інші – відкриті.

Плоска арена легко відділяється від підставки (несучої конструкції). Механізм з'єднання арени з підставкою дозволяє легко повертати арену навколо



А



Б

Рис. 1. А – лабіринт Барнса, Б – «рятівна» лунка під ареною

центральної осі – це необхідно для усунення впливу неконтрольованих орієнтирів на арені.

Тварину поміщали на круглу, відкриту, підведену на 105 см над підлогою платформу (діаметр 92 см), і пред'являли зовнішній подразник у вигляді яскравого світла та сильного шуму. У відповідь подразнення тварина вимушена вибирати притулок – 1 з 17 отворів навколо платформи.

Дослідження складалось із тренувального (етап звикання – 1–4 доба) та експериментального блоків (5–12 доба).

При першому пред'явленні платформи (етап звикання) тварині демонстрували «рятивну» лунку, насильно не примушуючи тварину. Тварина залишалась в лунці 1–2 хвилини, а потім її повертали до домашньої клітки. Після цього платформу ретельно обробляли етиловим спиртом для видалення сторонніх запахів.

Під час тестування (експериментальний блок) тварину поміщали в центр платформи і пред'являли зовнішні подразники (світло, шум). При цьому відмічали час знаходження «рятивної» лунки. Продуктивність зазвичай вимірювали кількістю помилок, які робили гризуни. Якщо тварина не знаходила потрібний отвір протягом 3 хв, поміщали щура в «рятивну» лунку на 1–2 хвилини, після чого повертали в домашню клітку. Стратегію пошуку «рятивної» лунки визначали як випадкову (перетин центра платформи декілька разів), послідовну (переміщення по периметру платформи до виявлення «рятивної» лунки) або пряму (попадання у «рятивну» лунку з 3-ма або меншою кількістю помилок).

Крім того, у якості показників когнітивних функцій щурів проводили замір часу пошуку «рятивної» лунки (у секундах) та кількість помилок, коли щур приймав уявний отвір за «рятивну» лунку.

Після закінчення експерименту щурів виводили з досліду під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) шляхом тотального кровопускання, виділяли зубо-щелепні блоки для підрахунку ступеня атрофії альвеолярної кістки щелеп експериментальних тварин [8]

Перевірку існування статистично значимої різниці між рівнями ознаки у двох вибірках здійснювали, використовуючи U-критерій Манна-Уїтні, при рівні значущості 0,05.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Маса щурів в групах складала у середньому 258,5 г на початку експерименту та зростала під кінець експерименту (табл. 1).

*Пошукова активність щурів у лабіринті Барнса (вибір стратегії пошуку «рятивної» лунки).*

Аналіз пошукової активності тварин виявив ряд особливостей характеру пошуку «рятувальної» лунки.

Якщо пошук лунки супроводжувався перетином центру лабіринту більше трьох разів, то така стратегія вважалась «випадковою» (рис. 2).

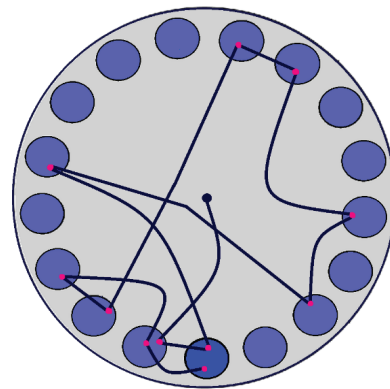


Рис. 2. «Випадкова» стратегія пошуку «рятувальної» лунки

У разі, якщо експериментальна тварина по чергово зазірала у кожен лунку, то стратегія пошуку мала назву «послідовна» (рис. 3).

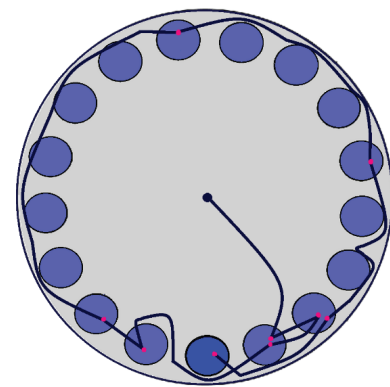


Рис. 3. «Послідовна» стратегія пошуку «рятувальної» лунки

Якщо щур не перетинав центр лабіринту та майже одразу знаходив потрібну лунку, тобто

Таблиця 1

Середня маса щурів в ході експерименту, г

Група	Стать	Початкова маса	Кінцева маса	Приріст
Інтактна	самці	248	266	18
Інтотоксикація	самці	269	297	28

робив не більше трьох помилок, то така стратегія пошуку вважалась «прямою» (рис. 4).

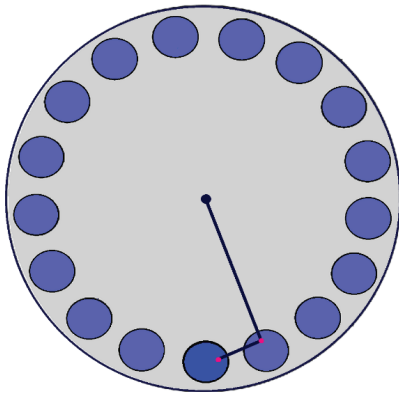


Рис. 4. «Пряма» стратегія пошуку «рятувальної» лунки

#### Визначення поведінкової активності щурів у лабіринті Барнса

За нашими спостереженнями, на 5-й день дослідження середній час пошуку сховища (табл. 2) самцями контрольної групи становив в середньому 48 с, а протягом наступних днів дослідження зменшувався.

У самців 2-ї групи, яких поїли водним розчином алюмінію, цей час становив в середньому 101 секунду, що у 2 рази більше за показники контрольної групи щурів ( $p \leq 0,05$ ,  $U_{\text{емп}} = 13$ ). Протягом останніх днів дослідження середній час пошуку «рятівної» лунки дещо коливався та на 9-й день експерименту максимально зріс ( $p \leq 0,05$ ,  $U_{\text{емп}} = 12$ )

порівняно 5-м днем експерименту, що свідчило про дезорієнтацію цих щурів в оточуючому просторі.

Кількість хибних занурювань у лунки контрольних самців на 5-й день експерименту становила 4, а у самців з інтоксикацією – 6. Протягом дослідження кількість помилок у контрольних самців суттєво не змінювалась, а у самців 2-ї групи лише зростала і по відношенню до 5-го дня, і до контролю та була найбільшою на 9-й день експерименту ( $p \leq 0,05$ ,  $U_{\text{емп}} = 15,5$ ) (табл. 3).

Аналіз стратегії пошуку «рятівної» лунки щурами контрольної групи показав, що «пряма» стратегія пошуку домінувала у 50–75% цих тварин протягом усіх днів дослідження.

Щури з інтоксикацією на початку дослідження в 62,5% випадків обирали «попередню» стратегію пошуку «рятівної» лунки, яка в подальшому (на 12-й день) змінилася з перевагою «випадкової». Необхідно відмітити, що 12,5% щурів взагалі відмовились від пошуку лунки.

Було також досліджено вплив алюмінієвої інтоксикації на показники атрофії альвеолярного відростка експериментальних щурів (табл. 4).

Показано, що моделювання експериментальної деменції через алюмінієву інтоксикацію призводить до інтенсифікації резорбтивних процесів в альвеолярній кістці щелеп у щурів (збільшення ступеня атрофії щелеп на 17,1%,  $p < 0,01$ ), що вимагає використання додаткових профілактичних пародонтопротекторних засобів.

Таблиця 2

#### Час пошуку сховища щурами протягом експерименту

День експерименту	Контроль	Інтоксикація
5	48±20,35	101±24,76*
7	58±22,65	69±17,16
9	46±20,50	111±24,85*
12	36±10,65	79±25,88

Примітка: \* – достовірність відмінностей по відношенню до значень групи «контроль».

Таблиця 3

#### Середня кількість помилок, здійснена щурами протягом експерименту

День експерименту	Контроль	Інтоксикація
5	4±1,31	6±1,03
7	6±1,71	7±1,29
9	5±2,40	10±3,36*
12	5±1,55	9±2,80

Примітка: \* – достовірність відмінностей по відношенню до значень групи «контроль».

Таблиця 4

#### Ступінь атрофії альвеолярного відростка щурів, %

Групи щурів	Атрофія, %	p
Інтактна	37,4±1,6	
Інтоксикація	43,8±0,8	$p < 0,01$

Примітка: p – достовірність відмінностей по відношенню до значень групи «контроль».

**Висновки.** 1. Тривала інтоксикація хлоридом алюмінію у щурів призвела до підвищення кількості помилок у 1,5 рази, часу проходження лабіринту у 2,2 рази порівняно з контролем. Спостерігали зміну стратегії пошуку «рятівної» лунки від «послідовної» до «випадкової» протягом періоду досліджень, що підтверджує відтворення у щурів експериментальної деменції.

2. Встановлено достовірне збільшення ступеня атрофії альвеолярного відростка щелеп щурів на 17,1% в умовах інтоксикації експериментальних щурів хлоридом алюмінію, що обґрунтовує необхідність використання лікувально-профілактичних засобів пародонтопротекторної дії.

### Література:

1. Wu H., Qiu W., Zhu X., Li X., Xie Z., Carreras I., Dedeoglu A., et al. The Periodontal Pathogen *Fusobacterium nucleatum*. Exacerbates Alzheimer's Pathogenesis via Specific Pathways. *Front. Aging Neurosci.* 2022. № 14. P. 912709. doi: 10.3389/fnagi.2022.912709

2. Kanagasingama S., Chukkapallib S., Welburya R., Sim K. Singhrao. Porphyromonas gingivalis is a Strong Risk Factor for Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease Reports.* 2020. № 4. P. 501–511. doi: 10.3233/ADR-200250

3. Fan Z., Tang P., Li Ch., Yang Q., Xu Yan., Su Chuan., Li Lu. *Fusobacterium nucleatum* and its associated systemic diseases: epidemiologic studies and possible mechanisms. *Journal of Oral Microbiology.* 2023. № 15(1). P. 2145729. doi: 10.1080/20002297.2022.2145729

4. Yan C., Diao Q., Zhao Y., Zhang C., He X., Huang R., Li Y. *Fusobacterium nucleatum* in fection-induced neurodegeneration and abnormal gut microbiota composition in Alzheimer's disease-like rats. *Front. Neurosci.* 2022. № 16. P. 884543. doi: 10.3389/fnins.2022.884543

5. Постоечко О.О. Взаємозв'язок захворювань ротової порожнини та організму в цілому. *Перший крок у науку* : матеріали VIII студентської конференції (11 грудня 2016 р., Суми, Україна). Суми, 2016. С. 48–49.

6. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (зі змінами № 1684-IX від 15.07.2021). *Відомості Верховної Ради України.* 2006. № 27. Ст. 230. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#>

7. Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах : затв. Наказом МОНмолодьспорт України від 01.03.2012 р. № 249. *Офіційний вісник України.* 2012. № 24. С. 82. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12#>

8. Експериментальне вивчення токсичної дії та специфічної ефективності засобів для догляду за порожниною рота : методичні рекомендації / Т.П. Терешина та ін. Київ : ДФЦ МОЗ України, 2003. 42 с.

### References:

1. Wu, H., Qiu, W., Zhu, X., Li, X., Xie, Z., Carreras, I., Dedeoglu, A. & et al. (2022). The Periodontal Pathogen *Fusobacterium nucleatum*. Exacerbates Alzheimer's Pathogenesis via Specific Pathways. *Front. Aging Neurosci.* No. 14. P. 912709. doi: 10.3389/fnagi.2022.912709

2. Kanagasingama, S., Chukkapallib, S., Welburya, R., & Sim, K. Singhrao. (2020). Porphyromonas gingivalis is a Strong Risk Factor for Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease Reports.* No. 4. P. 501–511. doi: 10.3233/ADR-200250

3. Fan, Z., Tang, P., Li, Ch., Yang, Q., Xu, Yan., Su, Chuan. & Li, Lu. (2023). *Fusobacterium nucleatum* and its associated systemic diseases: epidemiologic studies and possible mechanisms. *Journal of Oral Microbiology.* No. 15(1). P. 2145729. doi: 10.1080/20002297.2022.2145729

4. Yan, C., Diao, Q., Zhao, Y., Zhang, C., He, X., Huang, R., & Li, Y. (2022). *Fusobacterium nucleatum* in fection-induced neurodegeneration and abnormal gut microbiota composition in Alzheimer's disease-like rats. *Front. Neurosci.* No. 16. P. 884543. doi: 10.3389/fnins.2022.884543

5. Postojenko O.O. (2016). Vzajemovzjazok zahvorjuvan rotovoi porozhnyny ta organizma v cilomu. *Pershyj krok u nauku* : materialy of VIII students'koji konferenciji (11 grudnja 2016 r.) – [The relationship between diseases of the oral cavity and the body as a whole. *The first step in science* : thesis of VIII student conference. (December 11, 2016)]. Sumy, Ukraïna. P. 48–49. [in Ukrainian]

6. Закон Ukrainy № 3447-IV (2006) "Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennya" (zi zminamy № 1684-IX vid 15.07.2021). *Vidomosti Verkhovnoyi Rady Ukrainy.* 2006. № 27. St. 230. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15> – [Law of Ukraine No. 3447-IV "On the Protection of Animals from Cruelty" (as amended No. 1684-IX dated 07/15/2021). *Information of the Verkhovna Rada of Ukraine.* No. 27. Art. 230. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#>]. [in Ukrainian]

7. Poryadok provedennya naukovymy ustanovamy doslidiv, eksperymentiv na tvarynakh (2012) : zatv. Nakazom MONmolod'sport Ukrainy vid 01.03.2012 r. № 249. *Ofitsiyyny visnyk Ukrainy.* № 24. S. 82. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12#> – [The procedure for carrying out experiments, experiments on animals by scientific institutions (2012) : approved by order of the Ministry of Youth Sports of Ukraine dated 01.03.2012 No. 249. *Official Gazette of Ukraine.* No. 24. P. 82. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12#>]. [in Ukrainian]

8. Tereshyna, T.P., Kosenko, K.M., Levitskyi, A.P., Mozgova, N.V. & Bliznyuk, G.O. (2003). Eksperymental'ne vyvchennja toksychnoi dii ta specyfichnoi efektyvnosti zasobiv dlja dogljadu za porozhnynuju rota : metodychni rekomendacii – [Experimental study of the toxic effects and specific effectiveness of oral care products : methodological recommendations] Kyiv : DFC MOZ Ukrainy. [in Ukrainian]