

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНА СТОМАТОЛОГІЯ

УДК [57.084.1+616-08-039.71]:[616.311.2+616.314-089.843+599.323.45]

DOI <https://doi.org/10.35220/2523-420X/2024.2.1>

А.Ю. Адубецька,

кандидат медичних наук,

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

С.А. Шнайдер,

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

О.І. Демид,

кандидат медичних наук,

Одеський національний медичний університет,
Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна,
індекс 65082

А. Єнча,

доктор філософії,

ВПНЗ «Львівський медичний університет»,
вул. В. Поліщука, 76, м. Львів, Україна, індекс 79018

А. Петрашова,

доктор філософії,

ВПНЗ «Львівський медичний університет»,
вул. В. Поліщука, 76, м. Львів, Україна, індекс 79018

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА БІОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ АНТИОКСИДАНТНО- ПРООКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ГОМОГЕНАТАХ ЯСЕН ЩУРІВ НА ТЛІ ФІКСАЦІЇ ІМПЛАНТАТУ ТА ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ

Останні дослідження в галузі стоматології зосереджені на впливі оксидативного стресу на запальні процеси після фіксації імплантатів, що може спричиняти ускладнення. Тому актуальним є пошук нових терапевтичних підходів для мінімізації цих негативних наслідків і забезпечення антиоксидантного захисту.

Метою дослідження було оцінити біохімічні маркери антиоксидантно-прооксидантної системи в яснах щурів при фіксації імплантату та вплив лікувальних заходів на ці маркери за допомогою експерименту.

Матеріали та методи. У дослідженні було використано 45 щурів самців 7-місячного віку, середньою вагою 340-370 г. Тваринам дослідних груп фіксували імплантат, і з наступного дня перорально вводили

комплекс препаратів; контрольній групі у тому ж об'ємі вводили воду. Щурів розподілили на 3 групи. По закінченні експерименту проводили відсепарування ділянки слизової оболонки ясен для біохімічних досліджень: визначали показники антиоксидантно-прооксидантної системи. Статистично значущу відмінність між альтернативними кількісними ознаками з розподілом, відповідним нормальному закону, оцінювали за допомогою *t*-критерію Ст'юдента. Різницю вважали статистично значущою при $p < 0,01$.

Результати дослідження. Дані демонструють, що фіксація імплантату викликає значні зміни в яснах щурів: наявність запальних процесів, інтенсифікацію процесів ПОЛ, а також одночасне зниження активності антиоксидантного захисту в тканинах ясен. Застосування розробленого лікувального комплексу препаратів на тлі фіксації імплантату призводить до нормалізації цих показників, що практично відповідають показникам інтактної групи.

Висновки. Отримані результати свідчать про розвиток оксидативного стресу і запального процесу в тканинах ясен після імплантації. Застосування лікувального комплексу препаратів ефективно знижує оксидативний стрес та відновлює антиоксидантний захист, що свідчить про його потенційну ефективність у профілактиці та лікуванні запальних ускладнень після імплантації, з перспективою впровадження в клінічну практику.

Ключові слова: імплантати, ясна, щури, експеримент, біохімічні маркери.

A.Yu. Adubetska,

Candidate of Medical Sciences,
State Establishment "The Institute of Stomatology
and Maxillo-facial Surgery National Academy
of Medical Sciences of Ukraine",

11 Rishelievskaya street, Odesa, Ukraine, postal code 65026

S.A. Shneider,

Doctor of Medical Sciences, Professor,
State Establishment "The Institute of Stomatology
and Maxillo-facial Surgery National Academy
of Medical Sciences of Ukraine",

11 Rishelievskaya street, Odesa, Ukraine, postal code 65026

O.I. Demyd,

Candidate of Medical Sciences,
Odesa National Medical University,
2 Valikhovskiy lane, Odesa, Ukraine, postal code 65082

Andrej Jenca,

PhD, Higher Private Educational Institution
"Lviv Medical University",
76 V.Polishchuk street, Lviv, Ukraine, postal code 79018

Adriana Petrasova,

PhD, Higher Private Educational Institution
"Lviv Medical University",
76 V.Polishchuk street, Lviv, Ukraine, postal code 79018

EXPERIMENTAL EVALUATION OF BIOCHEMICAL MARKERS OF THE ANTIOXIDANT-PROOXIDANT SYSTEM IN RAT GINGIVAL HOMOGENATES IN THE CONTEXT OF IMPLANT FIXATION AND THERAPEUTIC-PROPHYLACTIC MEASURES

Recent studies in the field of dentistry have focused on the impact of oxidative stress on inflammatory processes after implant fixation, which can cause complications. Therefore, it is important to find new therapeutic approaches to minimize these negative effects and provide antioxidant protection.

The purpose of the study was to evaluate biochemical markers of the antioxidant-prooxidant system in the gums of rats during implant fixation and the effect of treatment measures on these markers using an experiment.

Materials and methods. The study involved 45 male rats of 7 months of age, with an average weight of 340–370 g. The animals of the experimental groups had their implants fixed, and the next day they were orally administered a complex of drugs; the control group was administered water in the same volume. The rats were divided into 3 groups. At the end of the experiment, a section of the gingival mucosa was separated for biochemical studies: the indicators of the antioxidant-prooxidant system were determined. A statistically significant difference between alternative quantitative features with a distribution corresponding to the normal law was evaluated using Student's *t*-test. The difference was considered statistically significant at $p < 0.01$.

Research results. The data demonstrate that implant fixation causes significant changes in the gums of rats: the presence of inflammatory processes, intensification of lipid peroxidation processes, and a simultaneous decrease in the activity of antioxidant defense in gingival tissues. The use of the developed therapeutic complex of drugs against the background of implant fixation leads to the normalization of these indicators, which practically correspond to those of the intact group.

Conclusions. The results obtained indicate the development of oxidative stress and inflammation in the gingival tissues after implantation. The use of a therapeutic complex of drugs effectively reduces oxidative stress and restores antioxidant protection, which indicates its potential effectiveness in the prevention and treatment of inflammatory complications after implantation, with the prospect of implementation in clinical practice.

Key words: implants, gums, rats, experiment, biochemical markers.

Останні роки дослідження в галузі стоматології та щелепно-лицьової хірургії значною мірою зосереджуються на вивченні впливу оксидативного стресу на розвиток запальних процесів у тканинах після фіксації імплантатів [1, с. 82; 2, с. 292]. Відомо, що оксидативний стрес може спричиняти значні зміни в антиоксидантно-прооксидантній системі організму, що потенційно

призводить до розвитку ускладнень, таких як відторгнення імплантатів і руйнування кісткової тканини [3, с. 723; 4, с. 70]. У цьому контексті, велика увага науковців спрямована на пошук і розробку нових терапевтичних підходів, які могли б мінімізувати ці негативні наслідки та забезпечити ефективний антиоксидантний захист [5, с. 82].

Зважаючи на недостатню вивченість ефективності нових комплексів препаратів, спрямованих на зниження оксидативного стресу та запалення після фіксації імплантатів, актуальність проведення подібних досліджень є особливо важливою [2, с. 292; 5, с. 82]. Залишається відкритим питання, наскільки ефективними можуть бути такі терапевтичні стратегії в умовах хронічного запалення та чи можуть вони забезпечити тривалий захист від оксидативних пошкоджень [3, с. 723]. Тому проведення досліджень, що оцінюють вплив антиоксидантних препаратів на біохімічні показники в тканинах після фіксації імплантатів, є важливим кроком у напрямку підвищення якості стоматологічного лікування та профілактики ускладнень.

Метою даного дослідження була оцінка впливу лікувального комплексу препаратів на маркери антиоксидантно-прооксидантної системи в гомогенатах ясен щурів після фіксації імплантату.

Матеріали та методи дослідження. Були проведені експериментальні дослідження, в процесі яких було використано 45 щурів самців 7-місячного віку, середньою вагою 340-370 г. Тварин утримували у звичайних умовах віварію при природному освітленні та з вільним доступом до води та їжі. Експериментальні дослідження проводили в лабораторії біохімії та віварію ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицьової хірургії Національної академії медичних наук України» (ДУ «ІСЦЛХ НАМН»). Усі експерименти на щурах проводилися за затвердженими в ДУ «ІСЦЛХ НАМН» стандартними операційними процедурами, розробленими відповідно до Методичних вказівок Фармакологічного Комітету МОЗ України та Міжнародних правил роботи з лабораторними тваринами [6, 7].

Тваринам дослідних груп під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) фіксували імплантат. На верхній щелепі в точці на відстані 1,5 мм від молярів із заходом на акульову кістку на 1–1,5 мм, за допомогою фігурного бору діаметром 1 мм робили канал глибиною 2 мм під кутом 1200 до площі молярів і вкручували імплантат довжиною 4 мм та діаметром 1,2 мм (використовується в ортодонтії як анкер).

Після фіксації імплантату наступного дня дослідним тваринам щодня перорально вводили комплекс препаратів у вигляді суспензій, що мав протизапальні, антиоксидантні та антидисбіотичні властивості; контрольній групі у тому ж об'ємі вводили воду.

Тварин розподілили на 3 групи наступним чином:

1 – інтактна, n=15;

2 – контроль з фіксацією імплантату + вода, n=15;

3 – фіксація імплантату + комплекс препаратів, n=15.

Тривалість експерименту склала 30 днів. Щурів через 30 днів виводили з експерименту етаназією під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг) шляхом кровопускання з серця. Після розтину тварин проводили відсепарування ділянки слизової оболонки ясен для біохімічних досліджень. У гомогенатах ясен (20 мг/мл 0,05 М трис-НСІ буфера, рН 7,5) визначали показники антиоксидантно-прооксидантної системи – активність каталази, антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ) та вміст малонового діальдегіду (МДА) [8, с. 50].

При статистичній обробці отриманих результатів використовувалася комп'ютерна програма STATISTICA 6.1. для оцінки їхньої достовірності та похибок вимірювань. Статистично значущу відмінність між альтернативними кількісними ознаками з розподілом, відповідним нормальному закону, оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Різницю вважали статистично значущою при $p < 0,01$ [9, с. 124].

Результати та їх обговорення. Було проведено дослідження вмісту МДА, активності каталази та визначали індекс АПІ в тканинах ясен щурів на місці фіксації імплантату. Результати цих досліджень представлені в таблиці 1.

Проведений аналіз показав, що вміст показника ПОЛ малонового діальдегіду збільшився в 2 рази ($p < 0,001$) на тлі зниження основного антиоксидантного ферменту активності каталази у 1,8 рази ($p < 0,001$) у порівнянні з показниками інтактних тварин. Також антиоксидантно-прооксидантний індекс у 2-й групі зменшився у 3,8 рази ($p < 0,001$) відносно значень у щурів інтактної групи. Отримані дані цього дослідження свідчать про наявність запальних процесів та порушення балансу антиоксидантного захисту в організмі (табл. 1).

У слизовій оболонці ясен щурів застосування лікувального комплексу препаратів протягом 30 днів на тлі фіксації імплантату призвело до достовірного у 1,8 рази ($p < 0,001$) зниження вмісту МДА, зазначена стимуляція антиоксидантної активності – активність антиоксидантного ферменту каталази достовірно збільшилась у 1,6 рази ($p < 0,001$) відносно показників 2-ої групи. Завдяки цим змінам у слизовій оболонці ясен щурів 3-ої групи достовірно підвищився індекс АПІ у 2,8 рази ($p < 0,001$) відносно значень у щурів 2-ої групи з фіксацією імплантату. Отримані дані свідчать про наявність запальних процесів та порушення балансу антиоксидантного захисту в організмі (табл. 1).

Проведені експериментальні дослідження показали, що фіксація імплантату викликає значні зміни в яснах щурів, що свідчать про наявність запальних процесів, інтенсифікацію процесів ПОЛ, а також одночасне зниження активності антиоксидантного захисту в тканинах ясен. Застосування протягом 30 днів розробленого лікувального комплексу препаратів на тлі фіксації імплантату призводить до нормалізації цих показників, що практично відповідають показникам інтактної групи. Таким чином, можна розглядати як позитивну протизапальну, антиоксидантну дію засто-

Таблиця 1

Вплив лікувального комплексу препаратів на показники антиоксидантно-прооксидантної системи в гомогенатах ясен щурів після фіксації імплантату

Групи	Показники	Активність каталази, мккат/кг	Вміст МДА, ммоль/кг	АПІ, у.о
1. Інтактна група, n=15		9,61±0,68	17,23±1,12	5,57±0,28
2. Фіксація імплантату, n=15		5,13±0,34 $P < 0,001$	35,14±2,14 $P < 0,001$	1,45±0,11 $P < 0,001$
3. Фіксація імплантату + комплекс препаратів, n=15		8,12±0,52 $P > 0,1$ $P_1 < 0,001$	19,81±1,62 $P > 0,1$ $P_1 < 0,001$	4,10±0,22 $P < 0,002$ $P_1 < 0,001$

Примітка: p – достовірність відмінностей до показника в інтактній групі; p_1 – достовірність відмінностей до показника в групі «фіксація імплантату».

сування лікувального комплексу на тканину ясен після проведення імплантації (табл. 1).

Висновки

1. Фіксація імплантату у щурів супроводжується значним порушенням балансу антиоксидантно-прооксидантної системи, що проявляється підвищенням рівня малонового діальдегіду (МДА) в 2 рази та зниженням активності каталази в 1,8 рази порівняно з показниками інтактної групи. Це свідчить про розвиток оксидативного стресу і запального процесу в тканинах ясен після імплантації.

2. Застосування лікувального комплексу препаратів протягом 30 днів після фіксації імплантату призводить до значного зниження рівня МДА та підвищення активності каталази, що свідчить про ефективне зменшення оксидативного стресу та відновлення антиоксидантного захисту в тканинах ясен. Антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ) у щурів, що отримували комплекс препаратів, значно підвищився порівняно з групою без лікування.

3. Виявлені результати демонструють потенційну ефективність розробленого лікувального комплексу у профілактиці та лікуванні запальних ускладнень після імплантації. Подальші дослідження можуть сприяти впровадженню цього комплексу в клінічну практику для підвищення успішності стоматологічних імплантацій і зниження ризику запальних процесів.

Література:

- Ozawa R., Saita M., Sakaue S., Okada R., Sato T., Kawamata R., Sakurai T., Hamada N., Kimoto K., Nagasaki Y. Redox injectable gel protects osteoblastic function against oxidative stress and suppresses alveolar bone loss in a rat peri-implantitis model. *Acta Biomaterialia*. 2020 Jul. Vol. 1. № 110. P. 82–94. doi: 10.1016/j.actbio.2020.04.003
- Saita M., Kaneko J., Sato T., Takahashi S.S., Wada-Takahashi S., Kawamata R., Sakurai T., Lee M.C., Hamada N., Kimoto K., Nagasaki Y. Novel antioxidative nanotherapeutics in a rat periodontitis model: Reactive oxygen species scavenging by redox injectable gel suppresses alveolar bone resorption. *Biomaterials*. 2016 Jan. № 76. P. 292–301. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.10.077
- Varon-Shahar E., Shusterman A., Piattelli A., Iezzi G., Weiss E.I., Hour-Haddad Y. Peri-implant alveolar bone resorption in an innovative peri-implantitis murine model: Effect of implant surface and onset of infection. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2019 Aug. Vol. 21. № 4. P. 723–33. doi: 10.1111/cid.12800
- Khammissa R.A., Feller L., Meyerov R., Lemmer J. Peri-implant mucositis and peri-implantitis: bacterial infection. *SADJ*. 2012 Mar. Vol. 67. № 2. P. 70, 72–4.

- Ustaoglu G., Yaman D., Avci E. Oxidative stress and peri-implantitis: The role of oxidants and antioxidants. *Journal of Oral Health and Oral Epidemiology*. 2023. Vol. 12. №. 2. P. 82–8. doi: 10.34172/johoe.2023.14

- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasburg. Council of Europe, 1986;123:51.

- Наказ України «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах». Міністерство освіти і науки України. 2012. № 249.

- Експериментальні методи дослідження стимуляторів остеогенезу / А.П. Левицький та ін. : методичні рекомендації. Київ : ГФЦ, 2005. 50 с.

- Рогач І. М., Керецман А. О., Сіткар А. Д. Правильно вибраний метод статистичного аналізу – шлях до якісної інтерпретації даних медичних досліджень. *Науковий вісник Ужгородського університету*. 2017. Вип. 2. С. 124–28.

References:

- Ozawa, R., Saita, M., Sakaue, S., Okada, R., Sato, T., Kawamata, R., Sakurai, T., Hamada, N., Kimoto, K., & Nagasaki, Y. (2020). Redox injectable gel protects osteoblastic function against oxidative stress and suppresses alveolar bone loss in a rat peri-implantitis model. *Acta biomaterialia*, 110, 82–94. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.04.003>
- Saita, M., Kaneko, J., Sato, T., Takahashi, S. S., Wada-Takahashi, S., Kawamata, R., Sakurai, T., Lee, M. C., Hamada, N., Kimoto, K., & Nagasaki, Y. (2016). Novel antioxidative nanotherapeutics in a rat periodontitis model: Reactive oxygen species scavenging by redox injectable gel suppresses alveolar bone resorption. *Biomaterials*, 76, 292–301. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.10.077
- Varon-Shahar, E., Shusterman, A., Piattelli, A., Iezzi, G., Weiss, E. I., & Hour-Haddad, Y. (2019). Peri-implant alveolar bone resorption in an innovative peri-implantitis murine model: Effect of implant surface and onset of infection. *Clinical implant dentistry and related research*, 21(4), 723–33. <https://doi.org/10.1111/cid.12800>
- Khammissa, R. A., Feller, L., Meyerov, R., & Lemmer, J. (2012). Peri-implant mucositis and peri-implantitis: bacterial infection. *SADJ : journal of the South African Dental Association = tydskrif van die Suid-Afrikaanse Tandheelkundige Vereniging*, 67(2), 70–4.
- Ustaoglu, G., Yaman, D., & Avci, E. (2023). Oxidative stress and peri-implantitis: The role of oxidants and antioxidants. *Journal of Oral Health and Oral Epidemiology*, 12(2), 82–8. doi: 10.34172/johoe.2023.14
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (1986). Strasburg. Council of Europe. Retrieved from <https://rm.coe.int/168007a67b>.
- Nakaz Ukrayiny «Pro zatverdzhennya Poryadku provedennya naukovymy ustanovamy doslidiv, ekspery-

mentiv na tvarynakh» [Order of Ukraine «On Approval of the Procedure for Conducting Experiments and Experiments on Animals by Scientific Institutions»]. *Ministerstvo osvity i nauky Ukrainy – Ministry of Education and Science of Ukraine. zakon.rada.gov.ua*. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12#Text> [in Ukrainian].

8. Levyc'kyj, A.P., Makarenko, O.A., Den'ga, O.V. ta in. (2005). Eksperymental'ni metody doslidzhennja stymuljatoriv osteogenezu : Metodychni rekomendacii' [Experimental methods for studying osteogenesis stim-

ulators : methodological recommendations]. Kyi'v : GFC [in Ukrainian].

9. Rohach, I.M., Keretsman, A.O., Sitkar, A.D. (2017). Pravylny vybranyy metod statystychnoho analizu – shlyakh do yakisnoyi interpretatsiyi danykh medychnykh doslidzhen [Correct choice of statistical analysis method is the key way to high-quality interpretation of data of medical research]. *Naukovyy visnyk Uzhhorodskoho universytetu – Scientific Bulletin of Uzhgorod University*, 2(56), 124–28 [in Ukrainian].