

УДК [57.084.1+616.314-002]:616.314-002-08
DOI <https://doi.org/10.35220/2523-420X/2024.4.6>

О.В. Дєньга,

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

В.В. Козоріз,

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

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

Ж.О. Новікова,

кандидат медичних наук, доцент,
Одеський національний медичний університет,
Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна,
індекс 65082

А.О. Осадча,

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

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ПУЛЬПИ РІЗЦІВ ЩУРІВ НА ТЛІ МОДЕЛЮВАННЯ МНОЖИННОГО КАРІЄСУ ЗУБІВ ТА ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ

Надмірне вживання вуглеводів, особливо рафінованого цукру, асоційоване зі значним підвищенням ризику розвитку каріозних уражень, що підтверджується результатами численних експериментальних і клінічних досліджень. В умовах надлишкового споживання цукрів та дефіциту окремих мікро- і макроелементів посилюється карієсогенний потенціал ротової порожнини. У зв'язку з цим виникає нагальна потреба в розробленні та впровадженні високоефективних лікувально-профілактичних комплексів, здатних попередити формування множинного карієсу та знизити інтенсивність і глибину наявних уражень. **Мета дослідження.** Оцінити вплив лікувального комплексу препаратів на біохімічні показники пульпи різців щурів на тлі моделювання множинного карієсу зубів. **Матеріали та методи.** У дослідженні використано 30 білих щурів лінії Wistar (1-місячного віку, маса тіла

70±5 г), розподілених на три групи: інтактну (n=10); з моделлю множинного карієсу (n=10); з моделлю множинного карієсу та додатковим застосуванням ЛПК (n=10). Упродовж 60 діб тваринам 2-ї та 3-ї груп моделювали множинний карієс за допомогою карієсогенної дієти з високим вмістом рафінованого цукру. Щурам третьої групи додатково призначали досліджуваний лікувально-профілактичний комплекс. У кінці експерименту визначали активність кислоти та лужної фосфатази у пульпі різців. Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою програми STATISTICA 6.1, використовуючи t-критерій Стьюдента. **Результати дослідження.** У тварин, які отримували карієсогенний раціон без додаткової терапії, виявлено значне підвищення кількісних та глибинних показників каріозних поразок порівняно з інтактною групою. Водночас у групі, що отримувала ЛПК, зафіксовано істотне зменшення кількості та глибини каріозних порожнин, а також відносно відновлення балансу між активністю кислоти та лужної фосфатази у пульпі різців. **Висновки.** Запропонований лікувально-профілактичний комплекс ефективно знижує інтенсивність каріозного процесу в тварин із моделлю множинного карієсу і сприяє відновленню показників мінералізації твердих тканин зубів. Отримані результати підтверджують доцільність розробки та впровадження даного комплексу в стоматологічну практику з метою запобігання та корекції карієсогенних змін у ротовій порожнині, що виникають через надмірне споживання легкозасвоюваних вуглеводів.

Ключові слова: множинний карієс, щури, вуглеводне навантаження, експеримент, біохімічні маркери.

O.V. Dienha,

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

V.V. Kozoriz,

Post-graduate Student
Odesa National Medical University,
2 Valikhovsky lane, Odesa, Ukraine, postal code 65082

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

Zh.O. Novikova,

Candidate of Medical Sciences, associate professor
Odesa National Medical University,
2 Valikhovsky lane, Odesa, Ukraine, postal code 65082

A.O. Osadcha,

Assistant, Odesa National Medical University,
2 Valikhovsky lane, Odesa, Ukraine, postal code 65082

EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE BIOCHEMICAL INDICATORS OF RAT INCISOR PULP UNDER THE BACKGROUND OF MULTIPLE CARIES MODELING AND THERAPEUTIC AND PREVENTIVE MEASURES

Excessive carbohydrate consumption, especially refined sugar, is associated with a significantly increased risk of dental caries, as evidenced by numerous experimental and clinical studies. Under conditions of excessive sugar intake and deficiency of certain micro- and macroelements, the cariogenic potential of the oral cavity intensifies. In this regard, there is an urgent need to develop and implement highly effective preventive and therapeutic complexes capable of preventing the formation of multiple dental caries and reducing the intensity and depth of existing lesions. Aim of the study. To evaluate the effect of a therapeutic complex of drugs on the biochemical parameters of rat incisor pulp under conditions of multiple dental caries modeling. Materials and methods. The study involved 30 one-month-old white Wistar rats (body weight 70±5 g), divided into three groups: an intact group (n=10); a group with multiple caries modeling (n=10); and a group with multiple caries modeling plus an additional application of the therapeutic and prophylactic complex (TPC) (n=10). Over a 60-day period, animals in the second and third groups were given a cariogenic diet high in refined sugar to induce multiple caries. Rats in the third group additionally received the studied TPC. At the end of the experiment, the activity of acid and alkaline phosphatases in the incisor pulp was determined. Statistical analysis of the results was performed using the STATISTICA 6.1 software and Student's t-test. Results. Animals that received the cariogenic diet without additional therapy showed a significant increase in both the quantity and depth of carious lesions compared to the intact group. In contrast, the group that was administered the TPC demonstrated a substantial decrease in the number and depth of carious cavities, as well as a relative restoration of the balance between acid and alkaline phosphatase activity in the incisor pulp. Conclusions. The proposed preventive-therapeutic complex effectively reduces the intensity of the carious process in rats with a multiple caries model and contributes to the restoration of mineralization indicators in hard dental tissues. The obtained data confirm the feasibility of developing and implementing this complex in dental practice to prevent and correct cariogenic changes in the oral cavity resulting from excessive intake of easily digestible carbohydrates.

Key words: multiple caries, rats, carbohydrate load, experiment, biochemical markers.

Сучасні дані свідчать про провідну роль надмірного споживання цукру та високовуглеводних дієт у виникненні та прогресуванні карієсу зубів [1, 2]. Так, за результатами експериментальних досліджень встановлено, що раціони з високим вмістом простих вуглеводів здатні негативно впливати не лише на тверді тканини зуба, а й на періодонт, підвищуючи ризик розвитку запальних процесів [1]. Окрім того, низка робіт вказує

на тісний взаємозв'язок між ступенем каріозного ураження та змінами мікробіоценозу ротової порожнини, який формується в умовах надлишкового вживання цукрів [2]. Значну увагу дослідники також приділяють питанням впливу різноманітних форм цукровмісних продуктів (зокрема кукурудзяного сиропу з високим вмістом фруктози) на стан емалі й дентину, що підтверджує необхідність подальшого вивчення карієсогенного потенціалу таких компонентів [3].

У незважаючи на численні дослідження у цій галузі, актуальним залишається завдання визначити патогенетичні механізми порушення мінералізації твердих тканин зубів та розробити ефективні лікувально-профілактичні заходи. Низка авторів висвітлює важливість мікро- і макроелементної збалансованості в раціоні та корекції місцевого імунітету ротової порожнини. Проте питання комплексної дії спеціально підібраної терапії на біохімічні показники пульпи залишається малодослідженим, що і зумовлює необхідність нашого експериментального вивчення.

Враховуючи обмеженість наявних даних щодо впливу лікувально-профілактичних комплексів на ферментні процеси у пульпі зубів на тлі моделювання множинного карієсу, ми поставили за мету проаналізувати та оцінити ефективність запропонованого комплексу препаратів. Результати цього дослідження можуть стати основою для розробки сучасних профілактичних і терапевтичних стратегій у стоматологічній практиці, спрямованих на зниження розповсюдженості та інтенсивності каріозних уражень.

Мета даного дослідження. Оцінка впливу лікувального комплексу препаратів на біохімічні показники пульпи різців щурів на тлі моделювання множинного карієсу зубів.

Матеріал та методи дослідження. Були проведені експериментальні дослідження, в процесі яких було використано 30 одномісячних білих щурів лінії Wistar стадного розведення, із середньою масою тіла 70±5 г. Тварин утримували у звичайних умовах віварію при природному освітленні та з вільним доступом до води та їжі. На протязі всього періоду проведення експерименту були дотримані чітко мікрокліматичні умови навколишнього середовища віварію: температура – (19-23°C) та вологість – (50-75 %). 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» стандарт-

ними операційними процедурами, розробленими відповідно до Методичних вказівок Фармакологічного Комітету МОЗ України та Міжнародних правил роботи з лабораторними тваринами [4, 5].

Для оцінки ефективності лікувально-профілактичних комплексів виникла необхідність моделювання множинного карієсу зубів на експериментальних щурах із урахуванням етіопатогенетичних факторів – вживання значної кількості вуглеводів у вигляді цукру та надлишкового росту карієсогенних мікроорганізмів на тлі зниження мікро та макроелементів.

Тварин розподілили на 3 групи наступним чином:

- 1 – інтактна (стандартний раціон віварію), n=10;
- 2 – модель множинного карієсу (карієсогенний раціон), n=10;
- 3 – модель множинного карієсу + комплекс препаратів, n=10.

Тривалість моделювання патології склала два місяці.

Дослідним тваринам другої та третьої груп моделювали множинний карієс зубів дієтою Бугайової та Нікітіна в модифікації Ходакова та ін. [6]. Модифікований склад карієсогенної дієти наступний: цукор рафінований – 57 %; сухарики з білого пшеничного хлібу вищого сорту – 18,5 %; сир коров'ячий молочний знежирений – 18,5 %; олія соняшникова нерафінована – 5 %; сіль кухонна – 1 %; 5 г «Ундевіту» (5 драже) на 1 кг маси корму.

Тривалість експерименту склала 60 днів. Дослідних щурів виводили із експерименту шляхом тотального кровопускання із серця під тіопенталовим наркозом в дозі (40 мг/кг). Виділяли щелепи із зубами у яких підраховували кількість та глибину каріозних порожнин. Із різців за допомогою пульпо-екстрактора видаляли пульпу із якої відразу готували гомогенат з розрахунку (5 мг/мл 0,9 % розчину NaCl) для визначення

активності кислої (рН 4,8) та лужної (рН 10,5) фосфатаз [7, 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 $p < 0,01$ [8].

Результати та їх обговорення. Загальновідомо, що активність ферменту лужної фосфатази бере участь у процесах формування кристалів гідроксиапатита, ймовірно посилення мінералізації твердих тканин зуба залежить від активності ЛФ пульпи. Однак, активність кислої фосфатази (деструктивний фермент) при рН нижче (4,8) ротової рідини руйнує тверді тканини зуба що характеризує ступінь демінералізації. Індекс мінералізації розрахований за співвідношенням активностей лужної до кислої фосфатази свідчить про мінералізуючу функцію пульпи. Результати визначення біохімічних параметрів у пульпі різців щурів на тлі моделювання множинного карієсу та під впливом ЛПК наведені у таблиці.

Споживання тваринами карієсогенної дієти у 2-ій групі приводить до суттєвого підвищення активності кислої фосфатази на 40,3 % ($p < 0,001$), на тлі достовірного зниження активності лужної фосфатази на 33,0 % ($p < 0,001$), в результаті чого у 2,4 рази ($p < 0,001$), зменшився мінералізуючий індекс пульпи. Одержані результати біохімічного дослідження пульпи різців слугують про порушення процесу мінералізації та посилення процесів демінералізації у твердих тканинах зубів дослідних щурів.

Застосування лікувально-профілактичної терапії у щурів 3-ої групи за умов множинного карієсу приводить до вірогідного підвищення у пульпі

Таблиця

Активність кислої і лужної фосфатаз в пульпі різців щурів, які отримували лікувально-профілактичний комплекс за умов моделювання множинного карієсу, $M \pm m$

Групи щурів	Активність кислої фосфатази, мк-кат/кг	Активність лужної фосфатази, мкат/кг	МІ ЛФ/КФ
Інтактна група, n=10	27,0±1,1	2,45±0,10	90,7
Карієсогенний раціон (КР), n=10	45,1±2,6 $p < 0,001$	1,64±0,12 $p < 0,001$	36,3
КР + комплекс препаратів, n=10	29,5±1,3 $p > 0,2$ $p_1 < 0,001$	2,28±0,14 $p > 0,2$ $p_1 < 0,001$	77,2

Примітка: p – достовірність відмінностей від показників в інтактній групі; p_1 – достовірність відмінностей від показників у групі «Карієсогенний раціон».

різців активності ЛФ на 39,0 % ($p_1 < 0,001$; $p > 0,2$). Водночас, у 3-ій групі щурів активність КФ мала достовірне зниження на 34,5 % ($p_1 < 0,001$; $p > 0,2$), а також вірогідне у 2,1 рази підвищення мінералізуючого індексу.

Таким чином, з наведених вище даних необхідно відзначити, що застосування лікувально-профілактичної схеми композицією препаратів здатне підвищувати активність лужної фосфатази та одночасно знижувати активність кислій фосфатази, що призводить до нормалізації процесів мінералізації твердих тканин зубів та гальмування розвитку каріозного процесу у щурів.

Висновки. 1. Тривала дія розробленого лікувально-профілактичного комплексу зумовлювала суттєве зменшення поширеності й глибини каріозних порожнин, завдяки чому показники у дослідній групі наближалися до рівня інтактних тварин.

2. У тварин, що отримували дієту з високим вмістом рафінованого цукру, відзначено істотне збільшення кількості та глибини каріозних уражень порівняно з інтактною групою, що свідчить про негативний внесок надмірного вживання легкозасвоюваних вуглеводів у формування карієсу.

3. Отримані дані вказують на перспективність використання досліджуваної терапевтичної схеми для запобігання та корекції карієсогенних змін у твердих тканинах зубів, що підтверджує доцільність розробки сучасних підходів до профілактики та лікування множинного карієсу.

Література:

1. Pupin T.I. Influence of fat-free, fat and sucrose diets on rat periodont condition. *J Educ Health Sport*. 2021. № 11(5). P. 179-84. Available from: <https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/JEHS.2021.11.05.018>.
2. Pang L., Zhi Q., Jian W., Liu Z., Lin H. The oral microbiome impacts the link between sugar consumption and caries: a preliminary study. *Nutrients*. 2022. № 14(18). P. 3693. doi: 10.3390/nu14183693.
3. Xiao TianMing, Xia Wen Wei. Cariogenicity of high fructose corn syrup: an experimental study on rats. *Chin J Conserv Dent*. 2013. № 23(7). P. 446-9.
4. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasbourg. Council of Europe, 1986. 123. P. 51.
5. Наказ України «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах». Міністерство освіти і науки України. 2012. № 249.
6. Ходаков І., Хромагіна Л., Макаренко О., Мудрик Л. Модифікація казеїно-сахарозної дієти М.С. Бугайової та С.А. Нікітіна (1954) для моделювання карієсу зубів у щурів. *Вісник стоматології*. 2023. № 1(122). С. 71-6. DOI: 10.35220/2078-8916-2023-47-1.12

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

8. 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:

1. Pupin, T. I. (2021). Influence of fat-free, fat and sucrose diets on rat periodont condition. *Journal of Education, Health and Sport*, 11(5), 179-184. Available from: <https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/JEHS.2021.11.05.018>.
2. Pang, L., Zhi, Q., Jian, W., Liu, Z., & Lin, H. (2022). The oral microbiome impacts the link between sugar consumption and caries: a preliminary study. *Nutrients*, 14(18), 3693. <https://doi.org/10.3390/nu14183693>.
3. Xiao, T. M., & Xia, W. W. (2013). Cariogenicity of high fructose corn syrup: an experimental study on rats. *Chinese Journal of Conservative Dentistry*, 23(7), 446-449.
4. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (1986). Strasbourg. Council of Europe. Retrieved from <https://rm.coe.int/168007a67b>.
5. Nakaz Ukrainy «Pro zatverdzhennya Poryadku provedennya naukovymy ustanovamy doslidiv, eksperymentiv 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].
6. Khodakov, I., Khromahina, L., Makarenko, O., Mudryk, L. (2023) Modyfikatsiya kazeyino-sakharoznoyi diyety M.S. Buhayovoyi ta S.A. Nikitina (1954) dlya modelyuvannya kariyesu zubiv u shchuriv [Modification of casein-sucrose diet M.S. Bugaiova and S.A. Nikitin (1954) for modeling dental caries in rats]. *Visnyk stomatologii' – Bulletin of Dentistry*, 1(122), 71-6. DOI: 10.35220/2078-8916-2023-47-1.12 [in Ukrainian]
7. 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 stimulators : methodological recommendations]*. Kyi'v : GFC.
8. 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].