

УДК 61-092.4+616.314.9:599.323.4

DOI <https://doi.org/10.35220/2523-420X/2023.2.3>**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. 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

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ
ВПЛИВУ МОДЕЛЮВАННЯ ПОРУШЕННЯ
ТЕРМІНІВ ПРОРІЗУВАННЯ
ЗУБІВ НА МАСУ ТІЛА ТА СТАН
ПОКАЗНИКІВ АНТИМІКРОБНОГО
ЗАХИСТУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН**

Мета дослідження. Вивчення впливу моделювання порушення термінів прорізування зубів на масу тіла та стан активності лізоциму в сироватці крові щурів.
Матеріали та методи дослідження. Експеримент виконаний на 20 білих лабораторних щурах-самках та 37 щурятах. Починаючи з першого дня введення препаратів, до самок підсаджували самців. В залежності від використаних препаратів, тварин розподілили на 4 групи: 1) інтактна (дієта віварію); 2) L-тироксин в дозі 10 мг/кг + дієта віварію; 3) антибіотики (цефоперазон 180 мг/кг – вагітність, амоксиклав 135 мг/кг – лактація) + дієта віварію; 4) Мерказоліл – (20 мг/кг – вагітність), (50 мг/кг – лактація) + дієта віварію. Подальші дослідження проводили на щурятах, які були народжені від самок, що отримували ці препарати. Щурят виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) після періоду лактації приблизно у віці 35 днів. Загальна тривалість експерименту складала 56 днів. У 30-ти денному віці проводилось визначення маси тіла у щурів всіх груп. У щурів всіх груп проводився біохімічний аналіз сироватки крові.
Результати дослідження. У щурят, отриманих від самок яким моделювали експериментальний гіпотиреоз, маса тіла була 31,3% нижче відповідного показника інтактної групи. Застосування L-тироксину в 2-й групі призвело до достовірного зниження активності лізоциму на 40% в порівнянні з інтактною групою ($P < 0,001$). Також показники активності лізоциму в 3-й (Антибіотики) та 4-й (Мерказоліл) групах достовірно знизилися на 68,5% ($P < 0,001$) та 65,7% ($P < 0,001$), відповідно. Висновки. В результаті проведених досліджень встановлено пригнічення лізоцим-синтезуючої функції організму тварин, які антенатально отримували антибіотики, а також надлишок або дефіцит тиреоїдних гормонів.
Ключові слова: прорізування зубів, антибіотики, гіпотиреоз, гіпертиреоз, сироватка крові, лізоцим.

V.V. Horokhovskiy,

PhD (Medicine), Associate Professor,
Senior Lecturer at the Department of Paediatric Dentistry,
Odessa National Medical University,
2 Volkhovskiy 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

**AN EXPERIMENTAL STUDY
OF THE EFFECT OF THE DENTITION
TIMING SIMULATION
ON THE BODY WEIGHT AND STATE
OF ANTIMICROBIAL PROTECTION
INDICES IN THE BLOOD SERUM
OF EXPERIMENTAL ANIMALS**

The aim of the study. Study of the effect of the dentition timing simulation on the body weight and state of lysozyme activity in the blood serum of rats. **Research materials and methods.** The experiment was performed on 20 white female laboratory rats and 37 male rats. Starting from the first day of drug administration, the males were put together with females. Depending on the drugs used, the animals were divided into 4 groups: 1) intact (vivarium diet); 2) L-thyroxine in a dose of 10 mg/kg + vivarium diet; 3) antibiotics (cefoperazone 180 mg/kg – pregnancy, amoxiclav 135 mg/kg – lactation) + vivarium diet; 4) Mercazolil – (20 mg/kg – pregnancy), (50 mg/kg – lactation) + vivarium diet. Further studies were conducted on little rat that were born from the females receiving these drugs. Rats were removed from the experiment under thiopental anesthesia (20 mg/kg) after the lactation period at approximately 35 days of age. The total duration of the experiment was 56 days. The body weight of rats of all groups was determined at the age of 30 days. A biochemical analysis of the blood serum was performed in rats of all groups. **Results of the study.** The body weight of rats obtained from the females that were simulated experimental hypothyroidism was 31.3% lower than the corresponding index of the intact group. The use of L-thyroxine in the 2nd group led to a significant decrease in lysozyme activity by 40% compared to the intact group ($P < 0.001$). Indices of lysozyme activity in the 3rd (Antibiotics) and 4th (Mercazolil) groups also significantly decreased by 68.5% ($P < 0.001$) and 65.7% ($P < 0.001$), respectively. **Conclusions.** As a result of the conducted studies, inhibition of the lysozyme-synthesizing function was established in the body of animals that received antibiotics antenatally, as well as an excess or deficiency of thyroid hormones.
Key words: dentition, antibiotics, hypothyroidism, hyperthyroidism, blood serum, lysozyme.

Вступ. Дослідженню проблеми прорізування зубів приділено багато наукових досліджень [4; 5; 7].

Незважаючи на це, існує певна кількість невирішених питань пов'язаних з механізмами прорізування та впливом на ці процеси екзогенних та системних факторів. Існуючі сучасні теорії прорізування зубів теоріях (коренева, альвеолярна, пульпарна, кісткової перебудови) акцентують увагу на один головний фактор, а іншими нехтують [3; 6]. Таким чином суперечать одна одній. Тому дослідження процесів прорізування та факторів що впливають на них є актуальним завдання сучасної стоматології. А розробка моделей порушення термінів прорізування дасть змогу дослідити зміни в фізіологічних процесах, що відбуваються в порожнині рота при цих станах.

Відомо, що лізоцим – це фактор неспецифічної імунорезистентності, якій відіграє важливу роль у вродженому імунитеті, забезпечуючи захист від бактерій, вірусів та грибів [8; 9]. Лізоцим присутній у людини майже в усіх секретах, у тому числі ротовій рідині [11; 12]. В основі бактерицидної дії лізоциму лежить гідроліз β -1,4-глікозидні зв'язки між N-ацетилглюкозаміном та N-ацетилмурамовою кислотою пептидоглікану клітинної стінки бактерій [10]. Саме цього пептидоглікану є переважна більшість в структурі клітинної стінки гармпозитивних бактерій, що пояснює ефективну дію лізоциму на ці мікроорганізми. Дещо гірше лізоцим діє на грамнегативні бактерії. Також доведена протівірусна ефективність лізоциму [1; 2].

Беручи до уваги важливу роль лізоциму в антимікробному та протівірусному захисті організму, дослідження зміни його активності в сироватці крові у щурів при моделюванні порушення термінів прорізування зубів є важливим завданням.

Мета дослідження. Вивчення впливу моделювання порушення термінів прорізування зубів на масу тіла та стан активність лізоциму в сироватці крові щурів.

Матеріали та методи дослідження. 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) перорально у дозі 10 мг/кг маси тіла щоденно протягом вагітності та лактації.

Введення антибіотиків у 3-ої групі 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 гарно розчинялись. Дози антибіотиків корелювали з терапевтичним 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 30-ти денному віці проводилось визначення маси тіла у щурів всіх груп. У щурів всіх груп проводився біохімічний аналіз сироватки крові.

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. Як показано у табл. 1, істотне значення на показник народжуваності мало лише введення Мерказолілу

вагітним і лактуючим самкам яким моделювали експериментальний гіпотиреоз шляхом застосування мерказолілу. Величина цього показника була знижена у 2 рази ($P < 0,001$). Кількість народжених щурят на 1 самку яким застосовувався L-тироксину та антибіотики не мала суттєвих відмінностей у порівнянні з інтактними самками та становила $5,5 \pm 0,3$ та $5,0 \pm 0,4$ щурів відповідно.

Також середня маса щурят, які отримували у ранні терміни онтогенезу Мерказоліл, дуже відставала від маси інших досліджуваних груп. Так, у 4-й групі маса щурят у 30-тиденному віці становила $50,6 \pm 3,6$ грамів, що на 31,3% нижче відповідного показника інтактної групи.

В таблиці 2 представлені результати дослідження лізоциму в сироватці крові експериментальних тварин. З представлених даних видно, що застосування L-тироксину в 2-й групі призвело до достовірного зниження активності лізоциму на 40% в порівнянні з інтактною групою ($P < 0,001$). Також показники активності лізоциму в 3-й (Антибіотики) та 4-й (Мерказоліл) групах достовірно знизилися на 68,5% ($P < 0,001$) та 65,7% ($P < 0,001$), відповідно. На підставі отриманих даних можна зробити висновок про пригнічення лізоцимсинтезуючої функції організму тварин, які антенатально отримували антибіотики, а також надлишок або дефіцит тиреоїдних гормонів. Логічним наслідком зниження активності лізоциму є зменшення ступеню неспецифічного антимікробного захисту, а, отже, і посилення росту та розмноження патогенних бактерій в організмі (табл. 2).

Висновки. 1. В результаті дослідження встановлено зниження маси тіла у щурят, що були отримані від самок яким моделювали експериментальний гіпотиреоз (на 31,3% нижче відповідного показника інтактної групи).

2. Встановлено пригнічення лізоцимсинтезуючої функції організму тварин, які антенатально отримували антибіотики, а також надлишок або дефіцит тиреоїдних гормонів.

Література:

1. Хайтович М.В. Роль лізоциму в реакціях вродженого імунітету при респіраторній інфекції у дітей. *Здоров'я України*. 2020. № 3. С. 27.
2. Ferraboschi P., Ciceri S., Grisenti P. Applications of Lysozyme, an Innate Immune Defense Factor, as an Alternative Antibiotic. *Antibiotics (Basel)*. 2021. № 10(12). P. 1534. doi: 10.3390/antibiotics10121534
3. Jin Y., Wang C., Cheng S., Zhao Z., Li J. MicroRNA control of tooth formation and eruption. *Arch Oral Biology*. 2017. № 73. P. 302–310.
4. Shiyan H., Nanquan R., Shuhao X., Xiaobing L. Research progress on the cellular and molecular mechanisms of tooth eruption. *West China Journal of Stomatology*. 2016. № 34(3). P. 317–321. doi: 10.7518/hxkq.2016.03.020
5. Zhang J., Liao L., Li Y., Xu Y., Guo W., Tian W., Zou S. Parathyroid hormone-related peptide (1-34) promotes tooth eruption and inhibits osteogenesis of dental follicle cells during tooth development. *Journal of Cell Physiology*. 2019. № 234(7). P. 11900–11911.
6. Yu Y., Cui C., Guan S.Y., Xu R.S., Zheng L.W., Zhou X.D., Fan Y. Function of Orofacial Stem Cells in Tooth Eruption: An Evolving Perspective. *Chin J Dent Res*. 2021. № 24(3). P. 143–152. doi: 10.3290/j.cjdr.b1965049

Таблиця 1

Вплив препаратів на кількість потомства та їх масу

№	Групи тварин	Кількість народжених щурят на 1 самку	Маса щурів у 30-ти денному віці
1	Інтактна (дієта віварію)	$5,6 \pm 0,4$	$73,6 \pm 5,4$
2	Дієта віварію + L-тироксин	$5,5 \pm 0,3$ $P > 0,8$	$64,8 \pm 4,8$ $P > 0,25$
3	Дієта віварію + Антибіотики	$5,0 \pm 0,4$ $P > 0,5$	$70,3 \pm 5,2$ $P > 0,7$
4	Дієта віварію + Мерказоліл	$2,3 \pm 0,2$ $P > 0,001$	$50,6 \pm 3,6$ $P > 0,002$

Примітка: P – показник достовірності відмінностей з інтактною групою.

Таблиця 2

Вміст лізоциму в сироватці крові щурів (од/л)

Група	Інтактна (дієта віварію), n = 7	Дієта віварію + L-тироксин, n = 12	Дієта віварію + антибіотики, n = 11	Дієта віварію + Мерказоліл, n = 7
Активність лізоциму, од/л	$0,070 \pm 0,004$	$0,042 \pm 0,002$ $P < 0,001$	$0,022 \pm 0,001$ $P < 0,001$	$0,024 \pm 0,001$ $P < 0,001$

Примітка: P – показник достовірності відмінностей з інтактною групою.

7. Zeng L., He H., Sun M., Gong X., Zhou M., Hong Y., Wu Y., Chen X., Chen Q. Runx2 and Nell-1 in dental follicle progenitor cells regulate bone remodeling and tooth eruption. *Stem Cell Res Ther.* 2022. № 13(1). P. 486. doi: 10.1186/s13287-022-03140-3

8. Nawaz N., Wen S., Wang F., Nawaz S., Raza J., Iftikhar M., Usman M. Lysozyme and Its Application as Antibacterial Agent in Food Industry. *Molecules.* 2022. № 27(19). P. 6305. doi: 10.3390/molecules27196305

9. Ferraboschi P., Ciceri S., Grisenti P. Applications of Lysozyme, an Innate Immune Defense Factor, as an Alternative Antibiotic. *Antibiotics (Basel).* 2021. № 10(12). P. 1534. doi: 10.3390/antibiotics10121534

10. Jiang L., Li Y., Wang L., Guo J., Liu W., Meng G., Zhang L., Li M., Cong L., Sun M. Recent Insights Into the Prognostic and Therapeutic Applications of Lysozymes. *Front Pharmacol.* 2021. № 12. P. 767642. doi: 10.3389/fphar.2021.767642

11. Смоляр Н.І., Лещук С.С., Панас М.А. Визначення рівня лізоциму та секреторного імуноглобуліну (SIgA) у ротовій рідині дітей з бронхіальною астмою. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії.* 2015. Т. 15. № 3–1(51). P. 48–51.

12. Каськова Л.Ф., Уласевич Л.П. Показники мікробного обсіменіння та антимікробного захисту ротової порожнини у дітей віком 3-5 років з гіпертрофією аденоїдів в період проведення лікувально-профілактичних заходів. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії.* 2017. Т. 17. № 3(59). P. 215–218.

References:

1. Hajtovych M.V. (2020). Rol' lizocymu v reakcijah vrodzhenogo imunitetu pry respiratornij infekcii' u ditej – [The role of lysozyme in innate immune responses in respiratory infection in children]. *Zdorov'ja Ukrai'ny – Health Of Ukraine.* No. 3. P. 27. [in Ukrainian]

2. Ferraboschi P., Ciceri S., & Grisenti P. (2021). Applications of Lysozyme, an Innate Immune Defense Factor, as an Alternative Antibiotic. *Antibiotics (Basel).* No. 10(12). P. 1534. doi: 10.3390/antibiotics10121534

3. Jin Y., Wang C., Cheng S., Zhao Z., & Li J. (2017). MicroRNA control of tooth formation and eruption. *Arch Oral Biology.* No. 73. P. 302–310.

4. Shiyang H., Nanquan R., Shuhao X., & Xiaobing L. (2016). Research progress on the cellular and molecular mechanisms of tooth eruption. *West China Journal of Stomatology.* No. 34(3). P. 317–321. doi: 10.7518/hxkq.2016.03.020

5. Zhang J., Liao L., Li Y., Xu Y., Guo W., Tian W., & Zou S. (2019). Parathyroid hormone-related peptide (1-34) promotes tooth eruption and inhibits osteogenesis of dental follicle cells during tooth development. *Journal of Cell Physiology.* No. 234(7). P. 11900–11911.

6. Yu Y., Cui C., Guan S.Y., Xu R.S., Zheng L.W., Zhou X.D., & Fan Y. (2021). Function of Orofacial Stem Cells in Tooth Eruption: An Evolving Perspective. *Chin J Dent Res.* No. 24(3). P. 143–152. doi: 10.3290/j.cjdr.b1965049

7. Zeng L., He H., Sun M., Gong X., Zhou M., Hong Y., Wu Y., Chen X., & Chen Q. (2022). Runx2 and Nell-1 in dental follicle progenitor cells regulate bone remodeling and tooth eruption. *Stem Cell Res Ther.* No. 13(1). P. 486. doi: 10.1186/s13287-022-03140-3

8. Nawaz N., Wen S., Wang F., Nawaz S., Raza J., Iftikhar M., & Usman M. (2022). Lysozyme and Its Application as Antibacterial Agent in Food Industry. *Molecules.* No. 27(19). P. 6305. doi: 10.3390/molecules27196305

9. Ferraboschi P., Ciceri S., & Grisenti P. (2021). Applications of Lysozyme, an Innate Immune Defense Factor, as an Alternative Antibiotic. *Antibiotics (Basel).* No. 10(12). P. 1534. doi: 10.3390/antibiotics10121534

10. Jiang L., Li Y., Wang L., Guo J., Liu W., Meng G., Zhang L., Li M., Cong L., & Sun M. (2021). Recent Insights Into the Prognostic and Therapeutic Applications of Lysozymes. *Front Pharmacol.* No. 12. P. 767642. doi: 10.3389/fphar.2021.767642

11. Smoljar N.I., Leshhuk S.Je., & Panas M.A. (2015). Vyznachennja rivnja lizocymu ta sekretornogo imunoglobulinu (SIgA) u rotovij ridyni ditej z bronhial'noju astmoju – [Determination of lysozyme and secretory immunoglobulin (SIgA) levels in the oral fluid of children with bronchial asthma]. *Aktual'ni problemy suchasnoi' medycyny: Visnyk ukrai'ns'koi' medychnoi' stomatologichnoi' akademii' – Actual problems of modern medicine: Bulletin of the Ukrainian medical dental Academy.* Vol. 15. No. 3–1(51). P. 48–51. [in Ukrainian]

12. Kas'kova L.F., & Ulasevych L.P. (2017). Pokaznyky mikrobnogo obsimeninnja ta antymikrobnogo zahystu rotovoi' porozhnyny u ditej vikom 3–5 rokov z gipertrofijeju adenoj'div v period provedennja likuval'no-profilaktychnyh zahodiv – [Indicators of microbial contamination and antimicrobial protection of the oral cavity in children aged 3–5 years with adenoid hypertrophy during therapeutic and preventive measures]. *Aktual'ni problemy suchasnoi' medycyny: Visnyk ukrai'ns'koi' medychnoi' stomatologichnoi' akademii' – Actual problems of modern medicine: Bulletin of the Ukrainian medical dental Academy.* Vol. 17. No. 3(59). P. 215–218. [in Ukrainian]