

ary decay» index was not observed in any of researching groups after 6 and after 12 months. However, a secondary decay was registered in the III group after 12 months. After 18 months we indicate increasing of this criterion, and, moreover, II group patients suffered from secondary decay in 2-4,3 times more often than their partners in I and III groups, thus restorations need immediate change. «Discomfort / sensitivity» level after 6 and 12 months was corresponding to the mark Alfa (A). After 18 months patients from I and III groups suffered from bearable discomfort and III group suffered in 2,1 times more often than in I, and in II group this effect was totally absent.

**Conclusion.** We can say without hesitation that those restorations which have external enamel beveling for edges of carious cavities (I class by Black classification) have the best results for patients. Upright design of enamel edge guarantees high restoration quality. Formation of enamel edge of cavity with internal beveling show worse results in quality.

**Key words:** carious cavities, carious cavities preparation, dental restoration, restoration quality.

*Рецензент – проф. Ткаченко І. М.*

*Стаття надійшла 14.01.2019 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2019-1-1-148-340-343

УДК 616.311-008.843.1-001.2-092.9:57.088.6

*Марковська І. В., Соколова І. І., Марковська О. В.*

## **ВМІСТ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА ТА АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ ФЕРМЕНТІВ У РОТОВІЙ РІДИНІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ**

**Харківський національний медичний університет (м. Харків)**

[i.v.markovskaya@gmail.com](mailto:i.v.markovskaya@gmail.com)

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Дослідження є частиною планової науково-дослідної роботи з проблеми «Стоматологія» «Удосконалення та розробка нових індивідуалізованих методів діагностики та лікування стоматологічних захворювань у дітей та дорослих», № державної реєстрації 0112U002382.

**Вступ.** На сьогоднішній день найбільш актуальною проблемою стоматології є захворювання ротової порожнини, що виникають внаслідок дії різноманітних шкідливих факторів навколишнього середовища, зокрема електромагнітного випромінювання. Це сприяє зростанню захворювань в порожнині рота, зокрема розвитку пародонтиту, карієсу та інших патологічних процесів у ротовій порожнині [1].

Відомо, що ротову рідину, яка має багатокомпонентний біохімічний склад, можна використовувати для оцінки загального стану організму [2]. Серед органічних компонентів ротової рідини найбільш важливими є різноманітні білки, що сприяють утворенню пелікули на поверхні емалі, здійснюють захист, аглютинацію бактерій, попереджають карієс й сукупність яких утворює протеом [3,4]. Білки та пептиди ротової рідини виконують різноманітні функції: забезпечують імунну відповідь, здійснюють антимікробну активність, обумовлюють механічний захист тканин порожнини рота [5]. Серед ферментів ротової рідини особливу увагу привертають протеїнази (пепсин, еластаза, калікреїн та інші). З даних наукової літератури відомо, що за умов впливу іонізуючої радіації активується кінінова система [1].

Значна роль в регуляції мінерального обміну притаманна кислотам та лужній фосфатазам ротової рідини, які виконують гідроліз органічних фосфатів й ініціюють процес кальцифікації, беруть участь у фосфорно-кальцієвому обміні, забезпечують мінералізацію зубів. Відомо, що одним з важливіших ознак карієсу є декальцинація емалі, тому на даному етапі може мати місце ферментативна мінералізація емалі зубів в присутності кислоти та лужної фосфатаз. Тому саме визначення активності даних ферментів в ротовій порожнині, як можливих чинників розвитку

захворювань пародонта та інших патологічних процесів, є актуальним.

**Мета дослідження:** визначити вміст загального білка, протеолітичну активність та активність амілази, фосфатаз та калікреїну в ротовій рідині щурів за умов впливу електромагнітного випромінювання.

**Об'єкт і методи дослідження.** У роботі для дослідження було використано 36 статевозрілих білих щурів-самців популяції WAG масою від 180 до 200 г з експериментально-біологічної клініки Харківського національного медичного університету. Контрольну групу (n=18) склали інтактні здорові тварини, що утримувались на стандартному харчовому раціоні віварію. Тварини дослідної групи (n=18) щодобово з 9-00 до 12-00 годин протягом 30 робочих днів підлягали випромінюванню змінним електричним полем низької частоти 70 кГц з використанням сертифікованого експериментального обладнання (свідоцтва № 07/0489, №26-01/0383). Ротову рідину у щурів збирали після стимуляції слиновиділення за допомогою розчину лимонного соку з дистильованою водою [6]. На 30-ту добу досліджень щурів виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації. Утримання та маніпуляції з експериментальними тваринами виконували відповідно до загальних принципів біоетики, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та інших нормативних та законодавчих актів. Дотримання етичних норм засвідчено комітетом з біоетики ХНМУ (протокол № 3 від 05.03.2014 р.).

Вміст загального білка в ротовій рідині щурів визначали за методом Lowry O.H. та співавт. [7]. Інтенсивність забарвлення вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при 638 нм проти контролю. Визначення протеолітичної активності ферментів ротової рідини визначали за розщепленням протамінсульфата. В основі методу лежить визначення аргініну, який відщепляється від протамінсульфату за умов дії протеїназ ротової рідини [7,8]. Активність фосфатаз розраховували за принципом: можливість гідролізу-

вати ефірний зв'язок у паранітрофенілфосфаті, який у лужному середовищі дає жовте забарвлення. Визначення активності лужної фосфатази проводили шляхом фотоколориметрування при довжині хвилі 400 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм проти контролю. Для визначення активності кислої фосфатази замість аміачного буферу використовували 0,2 М ацетатний буфер, рН-4,8.

Активність  $\alpha$ -амілази в ротовій рідині визначали за методом Каравея зі стійким крохмальним субстратом. Принцип методу амілокластичний. Активність  $\alpha$ -амілази оцінювали за надлишком крохмалю [9]. Екстинцію розчинів вимірювали на ФЕК з червоним світлофільтром (630-690 нм) у кюветі з довжиною шару 10 мм. Вміст калікреїну в ротовій рідині визначали спрощеним методом [10]. Проби спектрофотометрували та вимірювали приріст оптичної щільності при 253 нм та 25° протягом 15 хвилин на спектрофотометрі PV 1251 В.

Статистичний аналіз проводився з використанням комп'ютерного програмного забезпечення «Statistica 6.1» (Stat Soft. Inc. США), «GraphPad Prism 5». За критерієм Шапіро-Вілка перевіряли розподіл вибірок закону нормального розподілу. Порівняння центральних тенденцій у групах проводили за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні [11]. Числові дані представлені у вигляді медіани вибірки (Me) та міжквартильного діапазону (значення 25-го та 75-го процентилів). При перевірці статистичних гіпотез відмінність між групами враховувалась значущим при  $P < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** Вміст загального білка в ротовій рідині експериментальних тварин достовірно знижувався на 31,68% у порівнянні з контрольною групою (табл. 1).

Таблиця 1.

**Вміст загального білка та протеолітична активність в ротовій рідині у контрольній та дослідній груп (Me [25%;75%])**

Показники	Контроль (n=6)	Дослідна група (n=6)
Загальний білок, г/л	1,215 [1,08;1,28]	0,83 [0,79;0,87] P=0,003948
Протеолітична активність, нМ/мл·хв	6,975 [6,64; 7,23]	11,93 [11,42;12,35] P=0,003948

**Примітка:** n – кількість тварин; p – рівень значущості порівняно з контролем.

Відомо, що ротова рідина містить ферменти зі специфічною дією, зокрема протеїнази, які вивільняють медіатори запальних та алергійних реакцій, підвищують проникність капілярів, викликають набряк, еритему, посилюють міграцію лейкоцитів [3,5,8]. Протеолітична активність ротової рідини щурів навпаки достовірно підвищувалася на 41,53% у порівнянні з контролем. Зниження загального білка на тлі підвищення протеолітичної активності ферментів ротової рідини свідчить про розщеплення білкових компонентів, зокрема захисних білків.

У результаті дослідження визначена активність фосфатаз, калікреїну, амілази, що представлені в таблиці 2.

Таблиця 2.

**Активність ферментів у ротовій рідині інтактних тварин та щурів після впливу електромагнітного випромінювання (Me[25%;75%])**

Показники	Контроль (n=6)	Дослідна група (n=6)
Амілаза, мг/с·л	0,505 [0,45;0,55]	0,305 [0,28;0,33] P=0,003948
Калікреїн, мОд/мл	178,89 [170,25;181,08]	199,065 [197,22;205,17] P=0,003948
Лужна фосфатаза, нмоль/мг білка·хв	4,71 [4,28; 5,13]	6,075 [5,56;6,25] P=0,003948
Кисла фосфатаза, нмоль/мг білка·хв	11,96 [11,24;12,64]	21,05 [20,08;21,83] P=0,037374

**Примітка:** n – кількість тварин; p – рівень значущості порівняно з контролем.

У ротовій рідині щурів після тривалого неіонізуючого випромінювання спостерігається достовірно зниження активності амілази практично на 39,6% порівнянні з контрольною групою. Гіпоамілаземія може свідчити про недостатність функціонування привушних залоз, а також може бути результатом пошкодження секреторних клітин слинних залоз продуктами життєдіяльності мікроорганізмів.

У ротовій рідині щурів за умов дії електромагнітного випромінювання достовірно підвищувалася активність калікреїну на 11,2%, що може сприяти розширенню кровоносних судин залоз та підсилювати кровотік. У ротовій порожнині щурів спостерігається достовірно підвищення активності лужної фосфатази та кислої фосфатази на 28,98% та 76,0% відповідно. Підвищення активності лужної фосфатази свідчить про руйнування тканин пародонту та вихід ферментів зі клітин сполучної тканини та клітин, що беруть участь в підтримці структури зуба. Підвищення активності кислої фосфатази в ротовій рідині щурів також сприяє пошкодженню тканин пародонту, знижує регенеративні процеси в них, викликає розвиток захворювань слизової оболонки порожнини рота.

**Висновки.** Проведеними дослідженнями показано, що за умов дії електромагнітного випромінювання спостерігається зниження функціонального стану слинних залоз та протективних властивостей ротової рідини, що відображується зниженням загального вмісту білка, активності лізоциму та амілази. Визначені зміни призведуть до втрати функціональної активності білкових молекул та протективних властивостей ротової рідини. Визначена гіпоамілаземія є наслідком зниження функціонування привушних залоз, пошкодження секреторних клітин продуктами життєдіяльності мікроорганізмів. Підвищення активності лужної та кислої фосфатази сприяє руйнуванню тканин пародонту, вивільненню ферментів зі клітин сполучної тканини та зниженню репаративних процесів. Також визначено, що за умов впливу електромагнітного випромінювання спостерігається активація кінінової системи, що може ініціювати запальні процеси в ротовій порожнині.

**Перспективи подальших досліджень.** Визначення основних біохімічних параметрів у ротовій рідині працівників підприємств, які в процесі роботи зазнають впливу профпатогенних факторів, зокрема впливу низькочастотного (70 кГц) електромагнітного випромінювання промислової частоти.

## Література

1. Bebeshko VG, Kovalenko AN, Belyy DA. Ostryy radiatsionnyy sindrom i yego posledstviya. Ternopol': TGMU; 2006. 436 s. [in Russian].
2. Brandtzaed P. Immunology of tonsils and adenoids: everything the ENT surgeon needs to know. Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. 2003;67: 69-76.
3. Kolesov SA, Korkotashvili LV. Proteom slyuny i yego diagnosticheskiye vozmozhnosti. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2015;5:54-8. [in Russian].
4. Ruhl S. The scientific exploration of saliva in the post-proteomic era: from database back to basic function. Expert. Rev. Proteomics. 2012;9(1):85-96.
5. Schultz BL, Cooper-White J, Punyadeera CK. Saliva proteome research: current status and future outlook. Crit. Rev. Biotechnol. 2013;33(3): 246-59.
6. Markovs'ka IV, Sokolova II, Myroshnychenko MS. Sposib zaboru slyny u shchuriv. Patent na vynakhid. Byul. № 4 vid 25.07.2016. [in Ukrainian].
7. Kolb VG, Kamyshnikov VS. Spravochnik po klinicheskoy khimii. Minsk: Belarus'; 1982. 366 s. [in Russian].
8. Mamedaliyev NA, Divocha VA. Aktivnost' proteoliticheskikh fermentov i ikh ingibitorov v rotovoy zhidkosti zdorovikh lyudey i patsiyentov s simptomami ostrykh respiratornykh virusnykh infektsiy. Medichna ta klinichna khimiya. 2017;19-3:103-7. [in Russian].
9. Ivanyts'ka HI, Lyulechko LV, Ivanyts'ka MV. Praktikum z klinichnoy biokhimiyyi: navch. posibnyk. Kyev: VSV «Medytsyna»; 2010. 184 s. [in Ukrainian].
10. Pashkina TS, Krinskaya AV. Uproshchennyy metod opredeleniya kallikreinogena i kallikreina v syvorotke (plazme) krovi cheloveka v norme i pri nekotorykh patologicheskikh sostoyaniyakh. Voprosy meditsinskoj khimii. 1974;20.6:660-3. [in Russian].
11. Kobzar' AI. Prikladnaya matematicheskaya statistika. Moskva: FIZMATLIT; 2012. 816 s. [in Russian].

### ВМІСТ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА ТА АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ ФЕРМЕНТІВ У РОТОВІЙ РІДИНІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

Марковська І. В., Соколова І. І., Марковська О. В.

**Резюме.** За умов впливу електромагнітного випромінювання змінним електричним полем низької частоти 70 кГц спостерігається зниження функціонального стану слинних залоз та протективних властивостей ротової рідини, що відображується в змінах вмісту основних біохімічних параметрів та сприяє розвитку пародонтиту, карієсу та патологічних процесів в ротовій порожнині.

**Мета:** визначити вміст загального білка, протеолітичну активність й активність амілази, фосфатаз та калікреїну в ротовій рідині щурів за умов впливу електромагнітного випромінювання.

**Результати:** визначено зниження вмісту загального білка в ротовій рідині на 31,68% на тлі підвищення протеолітичної активності на 41,53% у порівнянні з контролем. У ротовій порожнині щурів спостерігається достовірне підвищення активності калікреїну на 11,2%, активності лужної та кислій фосфатази на 28,98% та 79,0% відповідно.

**Ключові слова:** електромагнітне випромінювання, ротова рідина, загальний білок, протеолітична активність, ферменти.

### СОДЕРЖАНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА И АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ КРЫС В РЕЗУЛЬТАТЕ ДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Марковская И. В., Соколова И. И., Марковская Е. В.

**Резюме.** В результате действия электромагнитного излучения переменным электрическим полем низкой частоты 70 кГц наблюдается снижение функционального состояния слюнных желез и протективных свойств ротовой жидкости, что отображается в изменении содержания основных биохимических параметров, способствует развитию пародонтита, кариеса и других патологических процессов в ротовой полости.

**Цель:** определить содержание общего белка, протеолитическую активность и активность амилазы, фосфатаз и калликреина в ротовой жидкости крыс в результате действия электромагнитного излучения.

**Результаты:** определено снижение содержания общего белка в ротовой жидкости на 31,68% на фоне повышения протеолитической активности на 41,53% в сравнении с контролем. Активность амилазы снижалась на 39,6%. В ротовой полости крыс наблюдается достоверное повышение активности калликреина на 11,2%, щелочной и кислой фосфатазы на 28,98% и 79,0% соответственно.

**Ключевые слова:** электромагнитное излучение, ротовая жидкость, общий белок, протеолитическая активность, ферменты.

### THE TOTAL PROTEIN CONTENT AND SEVERAL ENZYME ACTIVITY IN THE RAT ORAL FLUID UNDERGOING ELECTROMAGNETIC RADIATION

Markovskaya I. V., Sokolova I. I., Markovskaya E. V.

**Abstract.** The electromagnetic radiation, performed by various electric field with low frequency 70 kHz, action results in the decrease of the functional state of salivary glands and the protective properties of the oral fluid to be reflected by changes of the major biochemical parameter content in the oral fluid and contributes to the development of periodontitis, caries and other pathological processes in the oral cavity.

**Aim:** the total protein content, proteolytic, amylase, phosphatase and kallikrein activity determination in the rat oral fluid underdoing electromagnetic radiation.

**Results:** the total protein content decrease by 31.68% on the background of the proteolytic activity increase by 41.53% in comparison with the control was determined the oral fluid. Amylase activity is decreased by 39.6%. A significant increase of the alkaline and acid phosphatase activity is observed by 28.98% and 79.0%, respectively in the oral cavity of rats. The conducted are carried out to show a decrease in the functional state of the salivary glands and protective properties of the oral fluid under conditions of electromagnetic radiation proved by a decrease of the total protein content, lysozyme amylase activity. The detected changes will lead to functional activity of protein

molecules and protective properties of the oral fluid loosening. Defined hypoamylasemia is a consequence of reduced function of parotid glands, damage of secretory cells by products of vital activity of microorganisms. Increased alkaline and acid phosphatase activity contributes to the destruction of periodontal tissues, the release of enzymes from connective tissue cells and the reduction of reparative processes. The influence of electromagnetic radiation is also determined to show an activation of the kinin system that can initiate inflammatory processes in the oral cavity.

**Key words:** electromagnetic radiation, oral fluid, total protein, proteolytic activity, enzymes.

Рецензент – проф. Ткаченко І. М.  
Стаття надійшла 27.12.2018 року

DOI 10.29254/2077-4214-2019-1-1-148-343-347

УДК 616.31-053.2+616-089.23:57.083.1

Мельник В. С., Горзов Л. Ф., Ізай М. Е.

## ЗМІНИ ОРАЛЬНОГО МІКРОБІОМУ ДІТЕЙ ПРИ ЛІКУВАННІ НЕЗНІМНОЮ ОРТОДОНТИЧНОЮ АПАРАТУРОЮ

ДВНЗ «Ужгородський національний університет» (м. Ужгород)

liudmyla.horzov@uzhnu.edu.ua

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Дана робота є фрагментом комплексної теми науково-дослідної роботи кафедри дитячої стоматології стоматологічного факультету ДВНЗ «Ужгородський національний університет» «Профілактика, діагностика, лікування основних стоматологічних захворювань у дітей Закарпаття» (№ державної реєстрації 0116U003555).

**Вступ.** Оральний мікробом є найбільш вивченим в людському організмі. Він нараховує більше ніж 600 поширених таксонів мікроорганізмів, на рівні видів. Проте тільки 54% мають офіційні назви, 14% – ще не названі, але культивовані та близько 32% – відомі, як некультивовані філотиipi. Мікроорганізми ротової порожнини здатні колонізувати тверді поверхні зубів і м'які тканини слизової оболонки, створюючи специфічні індивідуальні асоціації [1].

В світлі сучасних уявлень про оральну мікробіоту, по-іншому розглядаються всі процеси, які з нею пов'язані. Тобто патологічні зміни тканин пародонту, дегенеративно-дистрофічні зміни зубощелепового апарату та порушення фізико-хімічних процесів в ротовій порожнині можуть спричинити не тільки конкретні мікроорганізми, які відіграють роль біоіндикаторів. Мова йде про функціональні зміни співвідношення асоціацій мікроорганізмів [2].

Дані мікробіологічні асоціації в людини при певних умовах можуть бути представниками нормобіоти, а при зміні цих умов викликати розвиток патологічного процесу. Головну роль відіграє не родовий склад (видовий склад може змінюватись), а порушення співвідношення мікроорганізмів, яке і є діагностичним. Це персоніфіковані зміни і з ними розуміємо, що не окремі мікроорганізми, а їхні асоціації функціонально призводять до патологічних змін ротової порожнини [3].

Незважаючи на сьогоднішню популярність незнімної ортодонтичної апаратури і значне підвищення її ефективності, питома вага різних ускладнень, включаючи зміни тканин пародонту, досить висока – від 32,7 до 50%. Частка хронічного катарального гінгівіту складає 38% [4]. Додаткові ретенційні пункти сприяють накопиченню зубного нальоту та швидкому утворенню зубної бляшки. Катаральні гінгівіти завжди асоційовані з мікроорганізмами ротової порожнини. Дане захворювання важко піддається лікуванню, а наявність брекет-системи ще більше

утруднює виконання процедур особистої та професійної гігієни, спрямованих на усунення етіологічних чинників [5].

Історично гінгівіти пов'язані з такими індикаторними мікроорганізмами, як: *Porphoromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*; але у світлі нових уявлень має сенс дослідити функціональні зміни асоціацій мікроорганізмів [5].

Значна частота хронічного катарального гінгівіту, який виникає на тлі ортодонтичного лікування, не викликає сумнівів щодо доцільності наукових досліджень, спрямованих на вивчення співвідношень асоціацій мікроорганізмів. Дані наукові дослідження потрібні задля ранньої діагностики та правильного підбору методів і засобів гігієни [6,7,8].

**Мета дослідження** – дослідити легко діагностовані зміни мікробних асоціацій, що має значення з метою виявлення ранніх маркерів та для правильної профілактики та розпрацювання методологічних підходів.

**Об'єкт і методи дослідження.** Всього обстежено 62 дітей 12-15 річного віку з незнімною ортодонтичною апаратурою. Вікова уніфікація контингенту пацієнтів обумовлена, фактом того, що в період постійного прикусу у дітей тканини пародонту мають зрілу диференційовану морфологічну структуру і визначені в них зміни не можуть бути пов'язані з їх формуванням та періодами росту. До постановки ортодонтичної апаратури дані пацієнти мали здорові тканини пародонту.

З обстежених пацієнтів сформовано 2 групи:

I група – 32 дітей, пацієнти з хронічним катаральним гінгівітом, що виник в процесі ортодонтичного лікування. Серед них за гендерною ознакою 17 дівчат та 15 хлопців.

II група – контрольна – 30 практично здорових дітей того ж віку (15 дівчат та 15 хлопців).

Матеріалом мікробіологічного дослідження були змиви ротової порожнини. Визначення видового складу орального мікробіому проводилось на початку ортодонтичного лікування – 3 місяць, та в контрольних точках – 6 місяць та 12 місяць після фіксації брекет-системи. Пацієнтам у яких виявляли хронічний катаральний гінгівіт лікування не проводилося впродовж всього періоду дослідження.