



УДК [612.015.31+612.112.91]-02:616.314.17-008.1-06:616.153.478.6

DOI 10.11603/2311-9624.2021.4.12791

©Р. І. Худан, М. М. Корда

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

e-mail: romakhudan90@gmail.com

## **Кореляційні взаємодії між показниками кісткового метаболізму та реалізацією програмованої загибелі нейтрофілів крові за умови ліпополісахаридіндукованого пародонтиту без супутньої патології і на тлі хронічної тіолактонової гіпергомоцистеїнемії**

### ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції/Received:  
02.09.2021 р.

**Ключові слова:** пародонтит; гіпергомоцистеїнемія; кістковий метаболізм; апоптоз; нейтрофіли; кореляція.

### АНОТАЦІЯ

**Резюме.** Генералізований пародонтит (ГП) є мультифакторним захворюванням, що характеризується хронічним перебігом. Прогресування деструктивних явищ у пародонтальних тканинах залежить від багатьох факторів, у тому числі й супутніх загальносоматичних патологій, однією з яких є синдром гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ).

**Мета дослідження** – встановити можливі кореляційні взаємодії між показниками кісткового метаболізму та кількістю нейтрофілів крові з підвищеною генерацією активних форм оксигену (АФО), зниженим трансмембранним мітохондріальним потенціалом ( $\Delta\Psi_m$ ) та ознаками апоптозу/некрозу в щурів із ліпополісахарид (ЛПС)-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ.

**Матеріали і методи.** Досліди виконано на 48 статевозрілих білих щурах, яких поділили на такі групи: перша – контрольна група (n=12); друга – тварини з ЛПС-індукованим пародонтитом (n=12); третя – щури з хронічною тіолактоною ГГЦ (n=12); четверта – тварини з ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі ГГЦ (n=12). Показники кісткового метаболізму – активність лужної фосфатази (ЛФ) та кислої фосфатази (КФ) визначали біохімічним методом. Генерацією АФО,  $\Delta\Psi_m$  та ознаки апоптозу/некрозу нейтрофілів крові визначали на проточному цитометрі Epics XL. Взаємозв'язок між досліджуваними показниками встановлювали за результатами проведеного кореляційного аналізу з використанням коефіцієнта кореляції Пірсона.

**Результати досліджень та їх обговорення.** У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено пряму взаємодію високої сили між активністю КФ у сироватці крові й кількістю нетрофілів із гіперпродукцією АФО; пряму взаємодію помірної сили між активністю КФ у сироватці крові й кількістю нетрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$ ; пряму взаємодію помірної сили між активністю КФ у сироватці крові та кількістю нетрофілів з ознаками апоптозу; пряму взаємодію помірної сили між активністю КФ у гомогенаті пародонта і кількістю нетрофілів з гіперпродукцією АФО; пряму взаємодію високої сили між активністю КФ у гомогенаті пародонта і кількістю нетрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$ ; пряму взаємодію помірної сили між активністю КФ у гомогенаті пародонта і кількістю нетрофілів з ознаками апоптозу.

**Висновки.** У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ виявлено низку вірогідних кореляційних взаємодій високої та помірної сили між активністю КФ як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта та кількістю нейтрофілів крові з гіперпродукцією АФО, зниженим  $\Delta\Psi_m$  та ознаками апоптозу, що ймовірно свідчить про зв'язок між ушкодженням тканин пародонта й ініціацією програмованої загибелі нейтрофілів за умови супутньої ГГЦ, що потребує подальшого вивчення.

**Вступ.** Генералізований пародонтит (ГП), незважаючи на значний науково-технічний прогрес і високі досягнення медицини, й досі залишається однією з найактуальніших проблем у стоматології, що зумовлено високою розповсюдженістю захворювання, значним наростанням деструктивних форм уже в молодому віці, складністю лікування, високою частотою загострень і соціально-економічними збитками [1–3]. Згідно з даними ВООЗ, захворюваність на ГП корелює з віком: у групі осіб від 35 до 44 років поширеність даної патології досягає 50 %, в осіб старше – 65–78 %, що призводить у 40 % випадків до втрати зубів [4].

ГП є мультифакторним захворюванням, що характеризується хронічним перебігом із періодичними загостреннями запального процесу в пародонті. Прогресування деструктивних явищ у пародонтальних тканинах залежить від багатьох факторів [4], у тому числі й супутніх загальносоматичних патологій, які вносять істотну відмінність в етіопатогенез захворювань пародонта. У зв'язку з цим, до перспективних напрямків вивчення патогенезу захворювань пародонта відносять виявлення факторів, що впливають на весь організм людини і тканини пародонта зокрема [5]. Одним із таких факторів є гомоцистеїн (ГЦ) – проміжний продукт метаболізму метіоніну та цистеїну. В Україні високий рівень ГЦ – гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) виявляється у 10 % здорових дорослих осіб, 13–43 % хворих на артеріальну гіпертензію та ішемічну хворобу серця та у 55 % пацієнтів з ішемічними інсультами [6]. Разом з тим, механізми ушкодження органів і тканин під дією високих концентрацій ГЦ залишаються нез'ясованими [7], а дані щодо взаємозв'язку підвищеного рівня ГЦ в крові та ГП є обмеженими та суперечливими [8–12].

**Метою дослідження** було встановити можливі кореляційні взаємодії між показниками кісткового метаболізму та кількістю нейтрофілів крові з підвищеною генерацією активних форм кисню, зниженим трансмембран-

ним мітохондріальним потенціалом та ознаками апоптозу/некрозу в щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ.

**Матеріали і методи.** Об'єктом експериментального дослідження були 48 нелінійних статевозрілих щурів-самців масою 180–200 г, яких утримували в умовах віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України на стандартному раціоні відповідно до санітарно-гігієнічних норм. Експериментальні дослідження провели з дотриманням вимог гуманного ставлення до дослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Усіх дослідних тварин поділили на такі групи: перша – контрольна група (щери, яким внутрішньошлунково вводили розчин 1 % крохмалю 1 раз на добу) (n=12); друга – тварини з ліпополісахаридіндукованим пародонтитом. Щурам цієї групи протягом 2-х тижнів через день вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1 мг/мл) ліпополісахариду (ЛПС) E. Coli («Sigma-Aldrich», США) (n=12) [13]; третя – тварини з хронічною тіолактоною гіпергомоцистеїнемією (ГГЦ) (n=12). Тіолактон ГЦ вводили в дозі 100 мг/кг маси тіла внутрішньошлунково на 1 % розчині крохмалю один раз на добу протягом 42 днів [14]; четверта – тварини з ліпополісахаридіндукованим пародонтитом на тлі ГГЦ (n=12). У щурів цієї групи викликали хронічну тіолактонову ГГЦ як описано вище. Починаючи з 29-ї доби після початку індукування ГГЦ, тваринам протягом 14-ти днів паралельно з тіолактоном ГЦ вводили в тканини ясен ЛПС за вищеописаною схемою.

Евтаназію тварин здійснювали шляхом пункції серця за умов глибокого тіопентал-натрієвого знеболювання на наступний день

після останнього введення ЛПС (друга і четверта групи), тіолактон ГЦ (третья група). Для подальших досліджень використовували цільну кров, сироватку крові та гомогенат пародонта.

Для підтвердження розвитку хронічної тіолактонової ГЦ у сироватці крові тварин визначали вміст загального ГЦ імуноферментним методом із використанням набору фірми «Axis-Shield» (Велика Британія) відповідно до протоколу виробника на аналізаторі Multiscan FC (Thermo Scientific, Фінляндія) та виражали у мкмоль/л.

Обраними біохімічними показниками кісткового метаболізму були активність лужної фосфатази (ЛФ) як маркер функціонування остеобластів та активність кислої фосфатази (КФ) як маркер інтенсифікації діяльності остеокластів. Активність ЛФ визначали при рН=10,5, КФ – при рН=4,8 [15]. Субстратом для дії ензимів слугував *p*-нітрофенілфосфат натрію, який під дією фосфатаз гідролізується до *p*-нітрофенолу, що має жовте забарвлення. Інтенсивність забарвлення пропорційна активності ензимів. Вимірювання оптичної густини проводили на спектрофотометрі СФ-46. Активність ензимів виражали у мккат/л у сироватці крові або мккат/кг в гомогенаті пародонта. За співвідношенням між активністю ЛФ і КФ розраховували індекс мінералізації (ІМ) [16].

Генерацію активних форм кисню (АФО) у популяції нейтрофілів крові визначали за допомогою барвника із заблокованою флюоресценцією – дигідродихлорфлюоресцеїну діацетату (ДФ-ДА) («Sigma Aldrich», USA) [17]. Рівень мітохондріального трансмембранного потенціалу ( $\Delta\Psi_m$ ) нейтрофілів крові визначали за допомогою набору реактивів «MitoScreen» («BD Pharmingen», США) [18]. Оцінку апоптозу/некрозу в популяції нейтрофілів крові проводили з використанням FITC-міченого анексину V з набору реагентів «ANNEXIN V FITC» («Beckman Coulter», США) [19]. Аналіз зразків клітин проводився на проточному цитометрі Epics XL («Beckman Coulter», США).

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення Excel (Microsoft, США) і Statistica 7.0 (Statsoft, США) з використанням непараметричних методів оцінки отриманих даних. Взаємозв'язок між досліджуваними показниками встановлювали за результатами проведеного кореляційного аналізу з використан-

ням коефіцієнта кореляції Пірсона. Вираховували коефіцієнт лінійної кореляції ( $r$ ) та його вірогідність ( $p$ ), що відповідним чином позначалося у таблицях (кореляційних матрицях). Зв'язок вважали слабким при коефіцієнті кореляції  $r$  0,10–0,30, помірної сили –  $r$  0,31–0,50, вираженим – при  $r$  0,51–0,70, високої сили – при  $r$  0,71–0,90, дуже високим –  $r$  0,91–0,99. При цьому також оцінювали направленість взаємозв'язку – пряму чи зворотну. Коефіцієнт кореляції оцінювали як вірогідний при  $p < 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** Аналізуючи кореляційні взаємодії між показниками кісткового метаболізму в сироватці крові/гомогенаті пародонта та генерацією АФО,  $\Delta\Psi_m$ , апоптозом/некрозом нейтрофілів крові встановлено відсутність вірогідних кореляційних взаємозв'язків у тварин із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології (табл. 1, 2).

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГЦ виявлено низку вірогідних кореляцій між показниками кісткового метаболізму та кількістю нейтрофілів крові з підвищеною генерацією активних форм кисню, зниженим трансмембранним мітохондріальним потенціалом та ознаками апоптозу/некрозу: пряму кореляційну взаємодію високої сили між активністю КФ у сироватці крові й кількістю нейтрофілів з гіперпродукцією АФО; пряму кореляційну взаємодію помірної сили між активністю КФ у сироватці крові та кількістю нейтрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$ ; пряму кореляційну взаємодію помірної сили між активністю КФ у сироватці крові й кількістю нейтрофілів з ознаками апоптозу; пряму кореляційну взаємодію помірної сили між активністю КФ у гомогенаті пародонта і кількістю нейтрофілів з гіперпродукцією АФО; пряму кореляційну взаємодію високої сили між активністю КФ у гомогенаті пародонта і кількістю нейтрофілів із зниженим  $\Delta\Psi_m$ ; пряму кореляційну взаємодію помірної сили між активністю КФ у гомогенаті пародонта і кількістю нейтрофілів з ознаками апоптозу (табл. 1, 2).

Порушення кісткового метаболізму, що підтримується за рахунок рівноваги процесів резорбції (опосередкованої остеокластами) і формування кісткової тканини (опосередкованої остеобластами) відіграють провідну роль у патогенезі ГП [20]. Ряд факторів впливає та координує ремоделювання кістки як на

**Таблиця 1.** Кореляційні зв'язки між показниками кісткового метаболізму в сироватці крові та генерацією активних форм оксигену, трансмембранним мітохондріальним потенціалом, апоптозом/некрозом нейтрофілів крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		пародонтит	ГГЦ	пародонтит на тлі ГГЦ
ЛФ, мккат/л	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	$r=-0,39$ ; $p=0,216$	$r=0,25$ ; $p=0,432$	$r=-0,01$ ; $p=0,974$
	Кількість клітин із зниженням $\Delta\Psi_m$ , %	$r=-0,35$ ; $p=0,271$	$r=0,25$ ; $p=0,425$	$r=-0,11$ ; $p=0,724$
	Кількість ANV <sup>+</sup> - клітин, %	$r=-0,43$ ; $p=0,158$	$r=-0,31$ ; $p=0,329$	$r=-0,38$ ; $p=0,229$
	Кількість PI <sup>+</sup> - клітин, %	$r=-0,01$ ; $p=0,964$	$r=-0,30$ ; $p=0,347$	$r=-0,08$ ; $p=0,798$
КФ, мккат/л	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	$r=0,16$ ; $p=0,620$	$r=0,46$ ; $p=0,135$	$r=0,79$ ; $p=0,002^*$
	Кількість клітин із зниженням $\Delta\Psi_m$ , %	$r=0,16$ ; $p=0,613$	$r=0,60$ ; $p=0,038^*$	$r=0,67$ ; $p=0,018^*$
	Кількість ANV <sup>+</sup> - клітин, %	$r=0,25$ ; $p=0,432$	$r=0,72$ ; $p=0,008^*$	$r=0,70$ ; $p=0,011^*$
	Кількість PI <sup>+</sup> - клітин, %	$r=0,38$ ; $p=0,222$	$r=0,65$ ; $p=0,023^*$	$r=0,52$ ; $p=0,084$
ЛФ/КФ	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	$r=-0,35$ ; $p=0,264$	$r=-0,31$ ; $p=0,327$	$r=-0,67$ ; $p=0,017^*$
	Кількість клітин із зниженням $\Delta\Psi_m$ , %	$r=-0,27$ ; $p=0,405$	$r=-0,49$ ; $p=0,106$	$r=-0,61$ ; $p=0,037^*$
	Кількість ANV <sup>+</sup> - клітин, %	$r=-0,45$ ; $p=0,144$	$r=-0,57$ ; $p=0,053$	$r=-0,80$ ; $p=0,002^*$
	Кількість PI <sup>+</sup> - клітин, %	$r=-0,43$ ; $p=0,160$	$r=-0,76$ ; $p=0,004^*$	$r=-0,54$ ; $p=0,068$

Примітка. \* – статистично значущі результати.

**Таблиця 2.** Кореляційні зв'язки між показниками кісткового метаболізму в гомогенаті пародонта та генерацією активних форм оксигену, трансмембранним мітохондріальним потенціалом, апоптозом/некрозом нейтрофілів крові за умови пародонтиту на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ ( $r_{xy}$ )

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		пародонтит	ГГЦ	пародонтит на тлі ГГЦ
ЛФ, мккат/кг	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	$r=-0,14$ ; $p=0,654$	$r=0,12$ ; $p=0,716$	$r=-0,03$ ; $p=0,930$
	Кількість клітин із зниженням $\Delta\Psi_m$ , %	$r=-0,25$ ; $p=0,429$	$r=-0,11$ ; $p=0,728$	$r=0,21$ ; $p=0,522$
	Кількість ANV <sup>+</sup> - клітин, %	$r=-0,12$ ; $p=0,711$	$r=0,11$ ; $p=0,740$	$r=0,30$ ; $p=0,339$
	Кількість PI <sup>+</sup> - клітин, %	$r=-0,21$ ; $p=0,504$	$r=-0,18$ ; $p=0,578$	$r=0,11$ ; $p=0,741$
КФ, мккат/кг	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	$r=0,36$ ; $p=0,257$	$r=0,65$ ; $p=0,022^*$	$r=0,68$ ; $p=0,015^*$
	Кількість клітин із зниженням $\Delta\Psi_m$ , %	$r=0,17$ ; $p=0,596$	$r=0,81$ ; $p=0,002^*$	$r=0,73$ ; $p=0,007^*$
	Кількість ANV <sup>+</sup> - клітин, %	$r=0,37$ ; $p=0,232$	$r=0,52$ ; $p=0,087$	$r=0,69$ ; $p=0,014^*$
	Кількість PI <sup>+</sup> - клітин, %	$r=0,26$ ; $p=0,411$	$r=0,53$ ; $p=0,076$	$r=0,56$ ; $p=0,056$
ЛФ/КФ	Кількість клітин із підвищеною генерацією АФО, %	$r=-0,20$ ; $p=0,537$	$r=-0,43$ ; $p=0,163$	$r=0,30$ ; $p=0,336$
	Кількість клітин із зниженням $\Delta\Psi_m$ , %	$r=-0,48$ ; $p=0,115$	$r=-0,70$ ; $p=0,011^*$	$r=-0,07$ ; $p=0,826$
	Кількість ANV <sup>+</sup> - клітин, %	$r=-0,25$ ; $p=0,425$	$r=-0,28$ ; $p=0,384$	$r=-0,09$ ; $p=0,770$
	Кількість PI <sup>+</sup> - клітин, %	$r=-0,36$ ; $p=0,249$	$r=-0,50$ ; $p=0,099$	$r=-0,05$ ; $p=0,879$

Примітка. \* – статистично значущі результати.

системному, так і на місцевому рівнях, забезпечуючи усунення мікроушкоджень у кістковому матриксі, збереження мікроархітектоніки кістки та підтримання її міцності. Дані кореляційного аналізу опосередковано свідчать, що хронічна тіолактонова ГПЦ виражено впливає на ремоделювання кісткової тканини за умови ЛПС-індукованого пародонтиту. Ймовірно, що остеотоксичний ефект ГПЦ пов'язаний з активацією остеокластогенезу, посиленням резорбції кістки та специфічним накопиченням ГЦ у кістковій тканині. Однак цілком імовірно, існують інші механізми негативного впливу ГПЦ на кістковий метаболізм, що потребує подальших досліджень.

Є дані про зв'язок між ушкодженням тканин пародонта, гіперпродукуванням АФО й апоптозом. Так, J. V. Matthews et al. продемонстрували збільшення позаклітинного вивільнення АФО *in vitro* без екзогенної стимуляції нейтрофілами крові, отриманими від пацієнтів із хронічним пародонтитом [21]. А. П. Парахонський та співавт., аналізуючи рівень основного маркера апоптозу клітин – цитохрому С у пацієнтів із пародонтитом, встановили, що вміст цього протеїну зростає на початкових стадіях пародонтиту і знижується на більш пізніх стадіях цього захворювання. Оскільки головними клітинними елементами ясенної рідини є лейкоцити, можна припустити, що виявлений під час дослідження цитохром С має лейкоцитарне походження [22]. А. К. Саркісов та співавт. обстежили 40 пацієнтів із ГП без загальносоматичної патології і встановили підвищення рівня маркера апоптозу – анексіну V у ротовій рідині [23]. Для визначення взаємозв'язку апоптотичних процесів і стану тканин пародонта

дослідники провели кореляційний аналіз, за результатами якого виявили статистично вірогідні взаємозв'язки середньої сили між рівнем анексіну V і значенням пародонтальних індексів, що відображає роль інтенсифікації апоптозу в прогресуванні запально-деструктивних змін пародонта.

Молекулярні механізми, які лежать в основі проапоптотичного ефекту ГЦ, ще недостатньо вивчено. Індукована гомоцистеїном мітохондріальна дисфункція може бути важливим молекулярним механізмом, який опосередковує апоптоз. ГЦ часто може зумовлювати мобілізацію внутрішньоклітинного  $Ca^{2+}$  і стресу ендоплазматичного ретикулума, що в подальшому спричиняє розвиток апоптотичних змін [24]. Більше того, поступовий вихід цитохрому С із мітохондрій, а також АФО активує шлях каспази-3, що призводить до апоптозу, тобто фрагментації ДНК. R. F. Huang et al. встановили, що ГЦ-тіолактон викликає апоптотичне ушкодження ДНК, опосередковане підвищеною внутрішньоклітинною генерацією  $H_2O_2$  та активацією каспази-3 [25].

**Висновки.** У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГПЦ виявлено низку вірогідних кореляційних взаємодій високої та помірної сили між активністю кислотої фосфатази як у сироватці крові, так і в гомогенаті пародонта та кількістю нейтрофілів крові з гіперпродукцією активних форм кисню, зниженим трансмембранним мітохондріальним потенціалом та ознаками апоптозу, що ймовірно свідчить про зв'язок між ушкодженням тканин пародонта й ініціацією програмованої загибелі нейтрофілів, що потребує подальшого вивчення.

©R. I. Khudan, M. M. Korda

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

### **Correlative interactions between indices of bone metabolism and the implementation of programmed death of blood neutrophils in lipopolysaccharide-induced periodontitis without concomitant pathology and combined with chronic thiolactone hyperhomocysteinemia**

**Summary.** Generalized periodontitis (GP) is a multifactorial disease characterized by a chronic course. The progression of destructive phenomena in periodontal tissues depends on many factors, including concomitant general somatic pathologies, one of which is hyperhomocysteinemia syndrome (HHcy).

**The aim of the study** – to establish possible correlation interactions between indices of bone metabolism and the number of blood neutrophils with increased generation of reactive oxygen species (ROS), reduced transmembrane mitochondrial potential ( $\Delta\Psi_m$ ) and signs of apoptosis/necrosis in rats with lipopolysaccharide (LPS)-induced periodontitis combined with chronic thiolactone HHcy.

**Materials and Methods.** The experiments were performed on 48 mature white rats, which were divided into the following groups: I – control group (n=12); II – animals with LPS-induced periodontitis (n=12); III – animals with chronic thiolactone HHcy (n=12); IV – animals with LPS-induced periodontitis combined with HHcy (n=12). Indices of bone metabolism – the activity of alkaline phosphatase and acid phosphatase were determined by a biochemical method. ROS generation,  $\Delta\Psi_m$ , and signs of apoptosis/necrosis of blood neutrophils were determined on an Epics XL flow cytometer. The relationship between the studied parameters was established based on the results of the correlation analysis using the Pearson correlation coefficient.

**Results and Discussion.** In rats with LPS-induced periodontitis combined with chronic thiolactone HHcy, a high-strength direct interaction between the activity of acid phosphatase in blood serum and the number of neutrophils with hyperproduction of ROS was established; a direct interaction of moderate strength between the activity of acid phosphatase in the blood serum and the number of neutrophils with reduced  $\Delta\Psi_m$ ; a direct interaction of moderate strength between the activity of acid phosphatase in the periodontal homogenate and the number of neutrophils with hyperproduction of ROS; a direct high-strength interaction between acid phosphatase activity in the periodontal homogenate and the number of neutrophils with reduced  $\Delta\Psi_m$ ; a direct interaction of moderate strength between the activity of acid phosphatase in the periodontal homogenate and the number of neutrophils with signs of apoptosis.

**Conclusions.** In rats with LPS-induced periodontitis combined with chronic thiolactone HHcy, a number of significant correlation interactions of high and moderate strength between acid phosphatase activity both in blood serum and in periodontal homogenate and the number of blood neutrophils with hyperproduction of ROS, reduced  $\Delta\Psi_m$  and signs of apoptosis were revealed, which indicates about the relationship between damage to periodontal tissues and the initiation of programmed death of neutrophils with concomitant HHcy, which requires further study.

**Key words:** periodontitis; hyperhomocysteinemia; bone metabolism; apoptosis; neutrophils; correlation.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Butt K. The burden of periodontal disease / K. Butt, R. Butt, P. Sharma // *Dental Update*. – 2019. – Vol. 46 (10). – P. 907–913.
- Periodontitis and cardiovascular diseases: Consensus report / M. Sanz, A. Marco Del Castillo, S. Jepsen [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* 2020. – Vol. 47 (3). – P. 268–288.
- Oral diseases: a global public health challenge / M. A. Peres, L. M. D. Macpherson, R. J. Weyant [et al.] // *Lancet*. – 2019. – Vol. 394 (10194). – P. 249–260.
- Мащенко І. С. Клінічні, імунологічні та метаболічні особливості загостреного і швидко прогресуючого варіантів генералізованого пародонтита / І. С. Мащенко, О. О. Гудар'ян, Т. О. Кучеренко // *Сучасна стоматологія*. – 2020. – № 4. – С. 26–32.
- AlJehani Y. A. Risk factors of periodontal disease: review of the literature / Y. AlJehani // *Int. J. Dent.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 182513.
- Вплив хронічної гіпергомоцистеїнемії на метаболізм сірковмісних амінокислот у нирках щурів при гіпер- та гіпотиреозі / В. М. Нечипорук, Н. В. Заїчко, А. В. Мельник [та ін.] // *Вісник наукових досліджень*. – 2019. – № 1. – С. 97–102.
- Медведев Д. В. Способ моделирования тяжелой формы гипергомоцистеинемии у крыс / Д. В. Медведев, В. И. Звягина, М. А. Фомина // *Рос. медико-биол. вест. им. акад. И. П. Павлова*. – 2014. – № 4. – С. 42–46.
- Эффективность адаптогенов при экспериментальном пародонтите на фоне гипергомоцистеинемии / Е. М. Кривошеева, Е. В. Фелелова, И. И. Боро-дулина [и др.] // *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. – 2010. – № 3 (73). – С. 221–225.
- Penmetsa G. S. Analysis of plasma homocysteine levels in patients with chronic periodontitis before and after nonsurgical periodontal therapy using high-performance liquid chromatography / G. S. Penmetsa, R. U. Bhaskar, A. Mopidevi // *Contemp. Clin. Dent.* – 2020. – Vol. 11. – P. 266–273.21.
- Periodontal Inflamed Surface Area Mediates the Link between Homocysteine and Blood Pressure / J. Botelho, V. Machado, Y. Leira [et al.] // *Biomolecules*. – 2021 – Vol. 11 (6). – P. 875.
- Is there a relationship between dental and/or periodontal pathology and values of C-reactive protein, homocysteine and lipoprotein (a) in patients with cardiovascular disease? A Case Control Study / B. G. Navarro, E. J. Salas, J. L. López, X. P. Sala // *Journal of Current Medical Research and Opinion*. – 2020. – Vol. 3 (05). – P. 451–458.
- Gut microbiota and the periodontal disease: role of hyperhomocysteinemia / D. Stanisic, M. Jovanovic, A. K. George [et al.] // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 99 (1). – P. 9–17.
- Моисеева Е. Г. Метаболический гомеостаз и иммунная реактивность организма в динамике воспаления в тканях пародонта (экспериментальное исследование) / Е. Г. Моисеева : автореф. дис. на соискание уч. степени д-ра мед. наук : 14.00.16. – М., 2008. – 45 с.

14. Stangl G. I. Homocysteine thiolactone-induced hyperhomocysteinemia does not alter concentrations of cholesterol and SREBP-2 target gene mRNAs in rats / G. I. Stangl // *Exp. Biol. Med.* – 2007. – Vol. 232 (1). – P. 81–87.
15. Левицкий А.П. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза : Метод, рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Денга // К. : ГФЦ, 2005. – 30 с.
16. Ферментативний метод оцінки стану кісткової тканини / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, І. В. Ходаков [та ін.] // *Одеський медичний журнал.* – 2006. – № 3. – С. 17–21.
17. Flow cytometric studies of oxidative product formation by neutrophils: a graded response to membrane stimulation / D. A. Bass, J. W. Parce, L. R. Dechatelet [et al.] // *J. Immunol.* – 1983. – Vol. 130 (4). – P. 1910–1917.
18. Механизмы апоптоза лимфоцитов при клеточном энцефалите / О. Е. Чечина, Н. В. Рязанцева, Е. В. Сазонова [и др.] // *Бюллетень сибирской медицины.* – 2011. – № 6. – С. 61–66.
19. Apoptosis of neutrophils / N. A. Maianski, A. N. Maianski, T. W. Kuijpers, D. Roos // *Acta Haematol.* – 2004. – Vol. 111 (1-2). – P. 56–66.
20. Gingival crevicular fluid calprotectin, osteocalcin and cross-linked N-terminal telopeptid levels in health and different periodontal diseases / S. Becerik, B. Afa-
- can, V. Ö. Oztürk [et al.] // *Disease Markers.* – 2011. – Vol. 31 (6). – P. 343–352.
21. Hyperactivity and reactivity of peripheral blood neutrophils in chronic periodontitis / J. B. Matthews, H. J. Wright, A. Roberts [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – 2007. – Vol. 147 (2). – P. 255–264.
22. Парахонский А. П. Значение апоптоза лейкоцитов в иммунопатогенезе пародонтита / А. П. Парахонский, Н. М. Шмалько, С. С. Цыганок // *Современные проблемы науки и образования.* 2006. – № 2. – С. 74–75.
23. Саркисов А. К. Анализ уровня маркера апоптоза аннексина V и стоматологического статуса у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом на фоне бронхоэктатической болезни / А. К. Саркисов, Е. А. Полунина, К. А. Саркисов // *Кубанский научный медицинский вестник.* – 2019. – Т. 26, № 2. – С. 85–92.
24. Mechanisms involved in the ischemic tolerance in brain: effect of the homocysteine / J. Lehotsky, M. Petras, M. Kovalska [et al.] // *Cell Mol. Neurobiol.* – 2015. – Vol. 35 (1). – P. 7–15.
25. Homocysteine thiolactone induces apoptotic DNA damage mediated by increased intracellular hydrogen peroxide and caspase 3 activation in HL-60 cells / R. F. Huang, S. M. Huang, B.S. Lin [et al.] // *Life Sci.* – 2001. – Vol. 68 (25). – P. 2799–2811.

#### REFERENCES

1. Butt, K., Butt, R., & Sharma, P. (2019). The burden of periodontal disease. *Dental Update*, 46(10), 907–913.
2. Sanz, M., Marco Del Castillo, A., Jepsen, S., Gonzalez-Juanatey, J.R., D'Aiuto, F., Bouchard, P., ... Wimmer, G. (2020). Periodontitis and cardiovascular diseases: Consensus report. *J. Clin. Periodontol.*, 47(3), 268–288.
3. Peres, M.A., Macpherson, L.M.D., Weyant, R.J., Daly, B., Venturelli, R., Mathur, M.R., ... Watt, R.G. (2019). Oral diseases: a global public health challenge. *Lancet*, 394(10194), 249–260.
4. Mashchenko, I.S., Hudaryan, O.O., & Kucherenko, T.O. (2020). Klinichni, imunolohichni ta metabolichni osoblyvosti zahostrenoho i shvydko prohresuyuchoho variantiv heneralizovanoho parodontyta [Clinical, immunological and metabolic features of acute and rapidly progressive variants of generalized periodontitis]. *Sychasna stomatolohiya – Modern Dentistry*, 4, 26–32 [in Ukrainian].
5. AlJehani, Y.A. (2014). Risk factors of periodontal disease: review of the literature. *Int. J. Dent*, 2014, 182513.
6. Nechyporuk, V.M., Zaichko, N.V., Melnyk, A.V., Ostrenyuk, R.S., & Korda, M.M. (2019). Vplyv khronichnoyi hiperhomotsysteyinemiyi na metabolizm sirkovmisnykh aminokyslot u nyrykakh shchuriv pry hiper- ta hipotyreozi [The effect of chronic hyperhomocysteinemia on the metabolism of sulfur-containing amino acids in the kidneys of rats in hyper- and hypothyroidism]. *Visnyk naukovykh doslidzhen – Bulletin of Scientific Research*, 1, 97–102 [in Ukrainian].
7. Medvedev, D.V., Zvyagina, V.I., & Fomina, M.A. (2014). Sposob modelirovaniya tyazheloy formy giperhomotsysteyinemi u kryv [Method for modeling severe form of hyperhomocysteinemia in rats]. *Ros. mediko-biol. vest. im. akad. I. P. Pavlova – Russian Medical and Biological Bulletin named after Academician I. P. Pavlov*, 4, 42–46 [in Russian].
8. Krivosheyeva, Ye.M., Fefelova, Ye.V., Borodulina, I.I., Sepp, A.V., & Borodulina, N.V. (2010). Effektivnost adaptogenov pri eksperimentalnom parodontite na fone giperhomotsysteyinemi [Efficiency of adaptogens in experimental periodontitis on the background of hyperhomocysteinemia]. *Byulleten VSNTS SO RAMN – Bulletin VSNTS SB RAMS*, 3(73), 221–225 [in Russian].
9. Penmetsa, G.S., Bhaskar, R.U., & Mopidevi, A. (2020). Analysis of plasma homocysteine levels in patients with chronic periodontitis before and after nonsurgical periodontal therapy using high-performance liquid chromatography. *Contemp. Clin. Dent.*, 11, 266–273.
10. Botelho, J., Machado, V., Leira, Y., Proença, L., & Mendes, J.J. (2021). Periodontal Inflamed Surface Area Mediates the Link between Homocysteine and Blood Pressure. *Biomolecules*, 11(6), 875.
11. Navarro, B.G., Salas, E.J., López, J.L., & Sala, X.P. (2020). Is there a relationship between dental and/or periodontal pathology and values of C-reactive protein, homocysteine and lipoprotein (a) in patients with cardiovascular disease? A Case Control Study. *Journal of Current Medical Research and Opinion*, 3(05), 451–458.
12. Stanisic, D., Jovanovic, M., George, A.K., Homme, R.P., Tyagi, N., Singh, M., & Tyagi, S.C. (2021). Gut microbiota and the periodontal disease: role of hyperhomocysteinemia. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 99(1), 9–17.
13. Moiseyeva, Ye.G. (2008). Metabolicheskiy gomeostaz i immunnaya reaktivnost organizma v dinamike vospaleniya v tkanyakh parodonta (eksperimentalnoye

- issledovaniye) [Metabolic homeostasis and immune reactivity of the organism in the dynamics of inflammation in the periodontal tissues (experimental study)]: avtoref. dis. na soiskaniye uchionoi stepeni d-ra med. nauk :14.00.16 [author. dis. for the degree of Dr. med. Science 14.00.16.]. Moscow [in Russian].
14. Stangl, G.I. (2007). Homocysteine thiolactone-induced hyperhomocysteinemia does not alter concentrations of cholesterol and SREBP-2 target gene mRNAs in rats. *Exp. Biol. Med.*, 232(1), 81-87.
15. Levitskiy A.P., Makarenko, O.A., & Denga, O.V. (2005). *Eksperimentalnyye metody issledovaniya stimulyatorov osteogeneza. Metodicheskiye rekomendatsii. [Experimental methods for the study of osteogenesis stimulators. Guidelines]* – Kyiv: GFC [in Russian].
16. Levytskiy, A.P., Makarenko, O.A., Khodakov, I.V., & Zelenina, Yu.V. (2006). Fermentativnyy metod otsinky stanu kistkovoyi tkanyny [Enzymatic method for assessing the condition of bone tissue]. *Odeskiy medychnyy zhurnal – Odessa Medical Journal*, 3, 17-21 [in Ukrainian].
17. Bass, D.A., Parce, J.W., Dechatelet, L.R., Szejda, P., Seeds, M.C., & Thomas, M. (1983). Flow cytometric studies of oxidative product formation by neutrophils: a graded response to membrane stimulation. *J. Immunol.*, 130(4), 1910-1917.
18. Chechina O.Ye., Ryazantseva N.V., Sazonova Ye.V., Zhukova N.G., Udintseva I.N., & Novitskiy V.V. (2011). Mekhanizmy apoptoza limfotsitov pri kleshchevom entsefalite [Mechanisms of apoptosis of lymphocytes in tick-borne encephalitis]. *Byulleten sibirskoy meditsiny – Bulletin of Siberian Medicine*, 10(6), 61-65 [in Russian].
19. Maianski, N.A., Maianski, A.N., Kuijpers, T.W., & Roos, D. (2004). Apoptosis of neutrophils. *Acta Haematol.*, 111(1-2), 56-66.
20. Becerik, S., Afacan, B., Oztürk, V.Ö., Atmaca, H., & Emingil, G. (2011). Gingival crevicular fluid calprotectin, osteocalcin and cross-linked N-terminal telopeptid levels in health and different periodontal diseases. *Dis. Markers.*, 31(6), 343-352.
21. Matthews, J.B., Wright, H.J., Roberts, A., Cooper, P.R., & Chapple, I.L. (2007). Hyperactivity and reactivity of peripheral blood neutrophils in chronic periodontitis. *Clin. Exp. Immunol.*, 147(2), 255-264.
22. Parakhonskiy, A.P., Shmalko, N.M., & Tsyganok, S.S. (2006). Znacheniyе apoptoza leykotsitov v immunopatogeneze parodontita [Significance of leukocyte apoptosis in the immunopathogenesis of periodontitis]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya – Modern Problems Of Science And Education*, 2, 74-75 [in Russian].
23. Sarkisov, A.K., Polunina, E.A., & Sarkisov, K.A. (2019). Analiz urovnya markera apoptoza annexina V i stomatologicheskogo statusa u patsiyentov s khronicheskim generalizovannym parodontitom na fone bronkhoektaticheskoy bolezni [Analysis of the level of the apoptosis marker annexin V and dental status in patients with chronic generalized periodontitis against the background of bronchiectasis]. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik – Kuban Scientific Medical Bulletin*, 26(2), 85-92 [in Russian].
24. Lehotsky, J., Petras, M., Kovalska, M., Tothova, B., Drgova, A., & Kaplan, P. (2015). Mechanisms involved in the ischemic tolerance in brain: effect of the homocysteine. *Cell Mol. Neurobiol.*, 35(1), 7-15.
25. Huang, R.F., Huang, S.M., Lin, B.S., Wei, J.S., & Liu, T.Z. (2001). Homocysteine thiolactone induces apoptotic DNA damage mediated by increased intracellular hydrogen peroxide and caspase 3 activation in HL-60 cells. *Life Sci.*, 68(25), 2799-2811.