



УДК 616-002 – 008.953-092

DOI 10.11603/2311-9624.2022.2.13051

©Г. Т. Бігуляк, І. М. Кліщ

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
e-mail: bigulyak@tdmu.edu.ua

Вплив міогенних стовбурових клітин на перебіг ферментної та неферментної систем антиоксидантного захисту в щурів із гострим пародонтитом

ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції/Received:
07.03.22 р.

Ключові слова: гострий пародонтит; антиоксидантний захист; міогенні стовбурові клітини.

АНОТАЦІЯ

Резюме. Захворювання тканин пародонта разом із каріозними ураженнями є за поширенням найбільш складною та значною патологією щелепно-лицевої системи. За даними ВООЗ, вони призводять до швидкої втрати зубів, що в 5 разів перевищує ускладнення каріозного процесу.

Мета дослідження – вивчити вплив стовбурових клітин на перебіг ферментної та неферментної систем антиоксидантного захисту за умов експериментального пародонтиту.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях масою тіла 180–200 г. Пародонтит викликали введенням ліпополісахариду (ЛПС) у тканини ясен по 40 мкл (1мг/мл) через день протягом 14-ти діб. Через 1-шу, 7-му, 14-ту і 21-шу доби після останнього введення ЛПС щурів декапітували під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Контролем слугував матеріал від інтактних тварин. Отримані цифрові дані обробляли за допомогою методу варіаційної статистики. Визначення достовірності відмінностей порівнюваних параметрів між різними вибірками проводили з використанням t-критерію Стьюдента (при нормальному розподілі результатів) чи Манна – Уїтні (у випадку розподілу, що не був нормальним). Достовірним вважали відмінності при $p \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Отримували міогенні стовбурові клітини (МСК) від вагітних самок орієнтовно на 21–24-ту доби вагітності. Для отримання життєздатних МСК використовували ферментний метод. Культивування здійснювали в CO_2 -інкубаторі за температури 37 °С та концентрації CO_2 – 5 %. Стовбурові клітини вводили щурам у ділянку ясен разовою ін'єкцією з розрахунку 1 млн клітин на 1 кг маси тіла. Для максимального збереження життєздатності клітин введення МСК здійснювали протягом 30 хв після отримання суспензії. Вміст супероксиддисмутази (СОД) визначали за методом R. Fried, каталази (КТ) – за методом R. Holmes, церулоплазмін (ЦП) – за методом В. Г. Колб, В. С. Камишнікова. Загальну антиоксидантну активність – за методом J. Stock та співавт.

Висновки. Встановлено, що моделювання гострого пародонтиту спричинило зростання факторів антиоксидантного захисту на ранньому етапі патологічного процесу з подальшим виснаженням антиоксидантних резервів, що може призвести до надмірного збільшення активності вільнорадикальних процесів та ушкодження тканин пародонта. Корекція із застосуванням МСК мала позитивний ефект, згладжуючи зміни, що виникали.

Вступ. Захворювання тканин пародонта разом із каріозними ураженнями є за поширенням найбільш складною та значною патологією щелепно-лицевої системи. За даними ВООЗ, вони призводять до швидкої втрати зубів, що в 5 разів перевищує ускладнення каріозного процесу. Загальна кількість пацієнтів, які звертаються у лікувально-профілактичні заклади стоматологічного профілю з вищезазначеними проблемами, зростає щороку, а функціональні розлади зубощелепної системи, викликані втратою зубів як наслідок уражень пародонта, часто зумовлюють розвиток реактивних змін загального стану організму людини [1].

Поширення даної патології в Україні серед населення працездатного віку досягає 85–95 %, при цьому в окремих регіонах майже 100 % і найважливіше те, що не має тенденції до її зниження [2–4]. Порівняно з іншими стоматологічними захворюваннями, ураження тканин пародонта супроводжуються більш складними і глибокими порушеннями обміну речовин, ендокринологічними та імунологічними змінами. На даному фоні відбувається розвиток морфологічних змін тканин пародонта, його судинно-нервового апарату, сполучнотканинних структур м'яких тканин кістки коміркового відростка, що спричиняє раннє руйнування комплексу тканин пародонта та появу патологічної рухомості й випадання зубів [3].

Найважливішими компонентами антирадикального й антипероксидного захисту є ферменти, які каталізують реакції між активованими формами кисню, чим здійснюють розпад гідропероксидів. До цих ферментів належать супероксиддисмутаза (СОД), глутатіонпероксидаза (ГПО), каталаза (КА). Основна функція цих ферментів полягає в нейтралізації супероксиданіон-радикала (O_2^-) і пероксиду водню (H_2O_2), які утворюються в результаті скидання неспареного електрона з мітохондрального ланцюга при перенесенні електронів. СОД дисмутує O_2^- до H_2O_2 , який відновлюється каталазою до води й атомарного кисню або глутатіонпероксидазою до води [5, 7, 8]. Ці ключові ферменти регулюють по суті таким фундаментальним процесом як основний потік активних форм кисню. Тому супероксиддисмутаза, каталаза і глутатіонпероксидаза можуть стати стратегічно важливою мішенню для багатьох індукторів вільнорадикального окиснення ліпідів ендо- й екзогенного походжень [5, 6, 9].

На даний час одним із перспективних шляхів впровадження у медичну практику досягнень молекулярної й клітинної біології є трансплантація стовбурових клітин з метою заміщення в організмі ушкоджених і зношених тканин.

Людські тканини мають обмежений потенціал для регенерації, однак сьогоднішній прогрес у дослідженні стовбурових клітин і тканинної інженерії обіцяє нові перспективи для тканинної регенерації у стоматологічній практиці майбутнього. Стовбурові клітини, відкриті в багатьох тканинах дорослого організму, і стовбурових клітин ембріонів мають потенціал формувати всі тканини.

Тому властивості стовбурових клітин, їх пластичність, тобто здатність трансформуватися в інші клітини, де є ушкодження, є підставою до застосування їх при ушкодженні тканин пародонта.

Метою дослідження було вивчити вплив стовбурових клітин на стан ферментної та неферментної систем антиоксидантного захисту за умов експериментального пародонтиту.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях масою тіла 180–200 г, отриманих із віварію Тернопільського національного медичного університету (ТНМУ) імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, відповідно до вимог Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин [9]. Щури знаходилися на повноцінному раціоні віварію з вільним доступом до води. Ефективність корекції із використанням стовбурових клітин вивчали на моделі пародонтиту, викликаного уведенням ліпополісахариду (ЛПС) у тканини ясен по 40 мкл (1мг/мл) через день протягом 14-ти діб. Через 1-шу, 7-му, 14-ту і 21-шу доби після останнього уведення ЛПС щурів декапітували під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Контролем слугував матеріал від інтактних тварин.

Отримували міогенні стовбурові клітини (МСК) від вагітних самок, орієнтовно на 21–24-ту доби вагітності. Після евтаназії з використанням тіопенталу із виділених плодів забирали пуповинні канатики, відмивали їх від крові стерильним буферним розчином HBSS з додаванням 1 % пеніциліну-стрептоміцину. Далі для дисоціації клітинної маси та отримання життєздатних МСК використовували ферментний метод. Для цього зразки

тканини подрібнювали скальпелем на фрагменти розміром 0,5–2 мм³, переносили в центрифужні пробірки з 2 мл ростового середовища DMEM/F12 Advanced та 0,2 мл колагенази I у концентрації 0,075 мг/мл та перемішували, не допускаючи флоатації. Пробірки з первинним матеріалом та колагеназою інкубували в термобані за температури 37 °C упродовж 70 хв, ретельно перемішуючи кожні 15 хв. Після ферментації у пробірки додали по 4 мл ростового середовища, піпеткували і центрифугували 5 хв при 300 g. Процедура повторювали двічі. Отриманий осад ресуспендували у 7 мл DMEM/F12 Advanced з додаванням 10 % ембріональної сироватки телят (ЕСТ) та висаджували у культуральні флакони. Культивування здійснювали в CO₂-інкубаторі за температури 37 °C та концентрації CO₂ – 5 %. Для уведення МСК з культурального флакона з 90 % конфлюентоміогенних МСК відбирали кондиційне середовище і промивали клітини буферним розчином HBSS (Gibco). Для відкріплення клітин від дна культурального флакона використовували ферментний препарат «Tryple» («Gibco») та інкубували 5 хв при 37 °C. Дію дисоціюючого розчину нейтралізували кондиційним середовищем. Далі клітинну суспензію перенесли у центрифужну пробірку і осаджували МСК упродовж 8 хв при 1700 об./хв. Отриманий осад розчиняли в 1 мл розчину HBSS і повторно відцентрифугували клітини за тих самих умов. Далі осад розчиняли у фізрозчині, отриману клітинну суспензію профільтрували через сито з діаметром пор 100 мкм і підраховували кількість виділених клітин за допомогою гемоцитометра з використанням вітального барвника – трипанового синього. Щурам вводили стовбурові клітини в ділянку ясен разовою ін'єкцією з розрахунку 1 млн клітин на 1 кг маси тіла. Для максимального збереження життєздатності клітин введення МСК здійснювали протягом 30 хв після отримання суспензії.

Супероксиддисмутазну активність (СОД) визначали за методом R. Fried [10], каталазну активність (КТ) – за методом R. Holmes [11], концентрацію церулоплазміну (ЦП) – за методом В. Г. Колб, В. С. Камишнікова [12], загальну антиоксидантну активність – за методом [8].

Отримані цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики. Визначення достовірності відмінностей порівнюваних

параметрів між різними вибірками проводили з використанням t-критерію Стьюдента (при нормальному розподілі результатів) чи Манна – Уїтні (у випадку розподілу, що не був нормальним). Достовірним вважали відмінності при $p \leq 0,05$ [13].

Результати досліджень та їх обговорення. Ми встановили, що супероксиддисмутазна активність у гемолізаті еритроцитів через 24 год від моменту нанесення травми зросла на 23,3 %, порівняно з показником тварин без змодельованої патології, однак до 7-ї доби вона достовірно знизилась і склала 78,4 % від норми. До 14-ї доби зниження було ще більшим, склавши 70,5 %, а до 21-ї дещо зросла до рівня 14-ї доби. Уведення МСК мало значний вплив на цей показник. Зокрема, на 1-шу добу зростання активності СОД було менш вираженим, ніж у тварин без корекції (108,3 % від норми), до 7-ї доби ензимна активність зросла до 152,9 % відносно тварин без корекції. У подальші терміни дослідження ми спостерігали аналогічні за спрямованістю зміни – зростання пероксиддисмутазної активності відносно тварин, яким корекцію не проводили.

Каталазна активність зазнавала аналогічних за спрямуванням змін. У тварин із гострим експериментальним пародонтитом на 1-шу добу спостерігалось незначне підвищення ензимної активності – 113,1 % від норми. У подальші терміни каталазна активність знижувалась і на 7-му добу складала 94,7 % від рівня тварин без змодельованої патології, на 14-ту – 87,3 % а на 21-шу – 95,0 % від норми. Застосування МСК спричинило зміни динаміки цього показника. Зокрема, на 1-шу добу від моменту уведення коригуючого чинника каталазна активність склала 108,2 % від норми, проте відносно тварин із пародонтитом, яким корекцію не проводили, показник склав 95,7 %. У подальші терміни спостереження каталазна активність достовірно зростала як відносно здорових тварин, так і тих, яким не проводили корекції, зокрема на 7-му добу показник склав 110,4 %, 14-ту – 127,5 %, 21-шу – 111,5 %.

Отже, уведення МСК супроводжується не тільки сповільненням продукування АФО й активності процесів ліпопероксидації, а й зміною активності антиоксидантних ферментів I лінії захисту – СОД і каталази.

Суттєвих змін зазнавав ще один показник, що є основним антиоксидантом сироватки

крові – церулоплазмін. Через 1-шу добу від моменту моделювання патологічного процесу концентрація ЦП достовірно зроста і склала 129,6 % від рівня тварин без патології. Однак у наступні терміни спостереження (7-ма і 14-та доби) ми спостерігали суттєве зниження концентрації церулоплазміну (83,1 та 76,7 % від норми відповідно). До 21-ї доби концентрація ЦП нормалізувалась і склала 103,8 % від показника інтактних тварин. За корекції із застосуванням МСК динаміка змін ЦП була дещо іншою. Зокрема, на 1-шу добу спостереження вона склала 150,5 % від рівня тварин, яким пародонтит не моделювали і, водночас, на 15,9 % перевищувала показник тварин із пародонтитом без корекції. У подальші терміни спостереження рівень ЦП дещо знижувався, однак складав 119,7 % на 7-му добу і 126,7 % – на 14-ту добу відносно здорових тварин, однак порівняно з показником тварин без корекції, показники склали відповідно 143,9 та 164,7 %. До 21-ї доби рівень ЦП нормалізувався відносно тварин без змодельованого патологічного процесу, а також суттєво не відрізнявся від показника тварин, яким корекції не проводили (109,7 %).

Динаміку, аналогічну за спрямуванням, продемонстрував ще один розрахунковий показник – загальна антиоксидантна властивість плазми крові. Ми також відмітили незначне зростання цього показника на першу добу після моделювання травми з подальшим зниженням до 14-ї доби і деяким підвищенням на 21-шу добу, коли ЗААП склала 78,7 % від показника тварин без змодельованої патології. Застосування МСК супроводжувалось менш вираженим, ніж у групі тварин без корекції, зростанням ЗААП на 1-шу добу (112,5 %) з подальшою нормалізацією до 21-ї доби, коли показник склав 103,2 % від норми. Однак якщо порівнювати з тваринами, яким моделювали патологічний процес без корекції, то різниця досить суттєва. Зокрема, на 7-му добу перевищення склало 82,5 %, на 14-ту – 69,7 %, а на 21-шу – 31 %.

Важливе значення у захисті від надмірної кількості вільнорадикальних продуктів відіграє глутатіонова система. Основним компонентом цієї системи є відновлений глутатіон, який, за рахунок сульфгідрильних груп здатен нейтралізувати вільнорадикальні продукти. У тварин із змодельованим гострим пародонтитом ми зафіксували достовірне зниження концентрації відновленого

глутатіону в усі терміни спостереження. Зокрема, через 1-шу добу від моделювання патологічного процесу вона склала 85 % від рівня тварин без патології, на 7-му добу – 79,8 %, 14-ту – 78,1 %, 21-шу – 85 %. Це вказує на витрачання відновлюваних еквівалентів з метою зменшення накопичення вільнорадикальних сполук. Ензимом, який забезпечує цей процес, є глутатіонпероксидаза. На початкових етапах патологічного процесу пероксидазна активність достовірно зростала і на 1-шу добу спостереження, склала 113,7 % від рівня здорових тварин. У подальшому ми спостерігали зниження глутатіонпероксидазної активності й на 7-му добу вона становила 107 % від норми, 14-ту – 76,5 %, 21-шу – 81,8 %, що може свідчити про виснаження ензимного потенціалу. Застосування МСК супроводжувалось нормалізацією глутатіонпероксидазної активності. На ранніх етапах показник суттєво не відрізнявся від значень тварин без змодельованої патології (104,2 % та 103,1 %), у подальшому показники дещо знижувались відносно здорових тварин, однак порівняно з аналогічними показниками тварин без корекції вони становили 124,8 та 119,3 %. Ще одним важливим ензимом, що забезпечує відновлення сульфгідрильних груп, є глутатіонредуктаза. Проведені дослідження вказують на достовірне зниження глутатіонредуктазної активності у тварин, яким моделювали гострий пародонтит. Зокрема, на 1-шу добу спостереження показник становив 78,6 % від рівня тварин без патології, на 7-му добу – 75,6 %, 14-ту – 66,5 %. До 21-ї доби показник дещо зріс (до 89,9 %), однак залишався достовірно нижчим від норми. За корекції МСК зниження ензимної активності було менше вираженим, ніж у тварин, яким корекцію не проводили (табл.). На 1-шу добу показник склав 88,3 % від аналогічного показника тварин без змодельованої патології, проте на 12,5 % перевищував показник тварин, яким корекції не проводили. На 7-му добу зниження ГР відносно здорових тварин було не достовірним і на 25,1 % перевищувало показник тварин без корекції. До 14-ї доби відбулось подальше зниження активності ГР і її показник склав 84,2 % від норми, однак перевищував рівень тварин без корекції на 26,4 %. До 21-ї доби показник ГР наблизився до норми (96,7 %), що на 7,5 % вище, ніж у тварин без корекції.

Таблиця. Показники антиоксидантної системи у тварин із гострим пародонтитом та за корекції міогенними стовбуровими клітинами

Показник/ група тварин	СОД	КТ	ЦП, мг/л	ЗААП, %	ВГ	ГП (ммоль/ хв·кг)	ГР (ммоль/ хв·кг)
Без патології	1,76±0,04	0,826±0,011	273,8±8,7	48,71±0,28	4,21±0,24	0,285±0,012	79,81±1,37
ПД, 1 доба	2,17±0,02*	0,934±0,016*	354,9±15,2*	56,25±0,19*	3,58±0,09*	0,324±0,011*	62,29±1,54*
ПД, 7 доба	1,38±0,04*	0,782±0,013*	227,5±12,3*	32,14±0,24*	3,36±0,11*	0,305±0,005*	60,34±1,22*
ПД, 14 доба	1,24±0,02*	0,721±0,011*	210,1±12,7*	30,11±0,22*	3,29±0,09	0,218±0,07*	53,18±1,13*
ПД, 21 доба	1,35±0,03*	0,785±0,009	284,2±11,9	38,35±0,24*	3,58±0,13*	0,233±0,009*	71,76±1,09
ПД+кор., 1 доба	2,35±0,05*#	0,894±0,011*	411,3±10,8*#	63,26±0,23*	3,74±0,11*	0,296±0,011#	70,53±1,21*
ПД+кор., 7 доба	2,11±0,03*#	0,854±0,017#	327,4±12,6#	58,67±0,27*#	3,88±0,16*#	0,264±0,009*#	75,44±1,24#
ПД+кор., 14 доба	1,93±0,04#	0,919±0,014*#	346,1±13,9*#	51,11±0,31#	4,04±0,14#	0,272±0,010#	67,20±1,12*#
ПД+кор., 21 доба	2,08±0,05#	0,875±0,012#	311,9±11,3#	50,25±0,18#	4,18±0,15#	0,278±0,012#	77,12±1,06

Примітки: 1) * – достовірність різниці показників тварин із гострим пародонтитом відносно тварин без змодельованої патології;

2) # – достовірність різниці показників тварин із гострим пародонтитом, яким виконували корекцію МСК, відносно щурів із гострим пародонтитом, яким корекції не проводили.

Висновки. Моделювання гострого пародонтиту спричинило зростання факторів антиоксидантного захисту на ранньому етапі патологічного процесу з подальшим виснаженням антиоксидантних резервів, що може при-

звести до надмірного зростання активності вільнорадикальних процесів та ушкодження тканин пародонта. Корекція із застосуванням МСК мала позитивний ефект, згладжуючи зміни, що виникали.

©Н. Т. Bihuliak, I. M. Klishch

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

The influence of myogenic stem cells on the course of enzyme and non-enzyme system of antioxidant protection in rats with acute periodontitis

Summary. Diseases of periodontal tissues together with carious lesions are the most common and significant pathology of the maxillofacial system. According to WHO, they lead to rapid tooth loss, which is 5 times more complicated than the carious process.

The aim of the study – to investigate of the effect of stem cells on the course of enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense systems under experimental periodontitis.

Materials and Methods. The study was performed on white outbred male rats weighing 180–200 g. Periodontitis was caused by the introduction of lipopolysaccharides in the gum tissue of 40 microliters (1 mg/ml) every other day for 14 days. On days 1, 7, 14, and 21 after the last LPS administration, rats were decapitated under thiopental anesthesia (50 mg/kg). Material from intact animals served as a control.

Results and Discussion. Obtaining MSCs was performed in pregnant females, approximately on the 21–24th day of pregnancy. The enzyme method was used to obtain viable MSCs. Cultivation was carried out in a CO₂ incubator at a temperature of 37 °C and a CO₂ concentration of 5 %. Stem cells were injected into the gums of rats in a single injection at the rate of 1 million cells per 1 kg of body weight. To maximize the viability of cells, the introduction of MSCs was carried out within 30 min after receiving the suspension. The content of superoxide dismutase (SOD) was determined by the method of R. Fried, catalase (CT) – by the method of R. Holmes, ceruloplasmin (CP) – by the method of VG Kolb, VS Kamishnikov. Total antioxidant activity - according to the method of J.Stock et al. The obtained digital data were processed by the method of variation statistics. Determination of the significance of differences in the compared parameters between different samples was performed using the Student's t-test (with the normal distribution of results) or Mann–Whitney (in case of non-normal distribution). Differences at p<0.05 were considered significant.

Conclusions. It was found that the simulation of acute periodontitis led to an increase in antioxidant factors in the early stages of the pathological process with subsequent depletion of antioxidant reserves, which can lead to excessive growth of free radical processes and damage to periodontal tissues. MSC correction had a positive effect, smoothing out the changes that occurred.

Key words: acute periodontitis; antioxidant protection; myogenic stem cells.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Шинування та безпосереднє протезування при захворюваннях пародонта : навч. посіб. / Воляк М. Н., Ожоган З. Р., Бульбук О. І. [та ін.]. – Івано-Франківськ : Видавництво ІФНМУ, 2010. – 104 с.
2. Белоусов Н. Н. Проблемы обследования и диагностики при заболеваниях пародонта / Н. Н. Белоусов, В. И. Буланов // *Стоматология*. – 2004. – № 2. – С. 19–21.
4. Данилевский Н. Ф. Заболевания пародонта / Данилевский Н. Ф., Борисенко А. В. – К. : Здоров'я, 2008. – 464 с.
3. Мельничук Г. М. Генетичні аспекти патогенезу захворювань тканин пародонта / Г. М. Мельничук // *Гал. лікар. вісник*. – 2002. – Т. 9, № 2. – С. 155–159.
5. Воскресенский О. Н. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе пародонтита / О. Н. Воскресенский, Е. К. Ткаченко // *Стоматология*. – 1991. – № 4. – С. 5–10.
6. Генералізований пародонтит / Т. Д. Заболотний, А. В. Борисенко, І. В. Шилівський. – Львів : ГалДент, 2011. – 240 с.

REFERENCES

1. Voliak, M.N., Ozhohan, Z.R., & Bulbuk, O.I. (2010). *Shynuvannia ta bezposerednie protezuvannia pry zakhvoriuvanniakh parodonta : navch. posibnyk – Splinting and direct prosthetics in periodontal diseases: training manual*. Ivano-Frankivsk: Vydavnytstvo IFNMU [in Ukrainian].
2. Belousov, N.N., & Bulanov, V.Y. (2004). Problemy obsledovaniya i diagnostiki pri zabolevaniyakh parodonta [Problems of examination and diagnosis in periodontal diseases]. *Stomatologiya – Dentistry*, 2, 19–21 [in Russian].
3. Danylevskiy, N.F., & Borysenko, A.V. (2008). *Zabolevaniya parodonta – Periodontal disease*. Kyiv: Zdorovia [in Russian].
4. Melnychuk, H.M. (2002). Henetychni aspekty patohenezu zakhvoriuvan tkanyn parodonta [Genetic aspects of the pathogenesis of periodontal tissue diseases]. *Hal. likar. Visnyk – Hal. Doctor. Herald.*, 9 (2), 155–159 [in Ukrainian].
5. Voskresenskiy, O.N., & Tkachenko, E.K. (1991). Rol perekisnogo okisleniya lipidov v patogeneze parodontita [The role of lipid peroxidation in the pathogenesis of periodontitis]. *Stomatologiya – Dentistry*, 4, 5–10 [in Russian].
6. Zabolotnyi, T.D., Borysenko, A.V., & Shylivskiy, I.V. (2011). *Heneralizovanyi parodontyt – Generalized periodontitis*. Lviv: HalDent [in Ukrainian].

7. Запальні захворювання пародонта / Т. Д. Заболотний, А. В. Борисенко, Т. І. Пупін. – Львів : ГалДент, 2013. – 205 с.
8. Girotti A. W. Mechanismus of Lipid Peroxidation / A. W. Girotti // *J. FreeRadical Biol. Med.* – 2009. – Vol. 1. – P. 87–95.
9. Пат. № 65771. Спосіб моделювання пародонтиту / Мачоган В. Р., Авдеев О. В. 2011, Бюл. № 23.
10. Fried R. Enzymatik and non-enzymatic assay of superoxideifilii / R. Fried // *Biochemie*. – 1975.– Vol. 57 (5). – P. 657–660.
11. Holmes R. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase / R. Holmes, C. Masters // *FEBS Lett.* – 1970. – Vol. 11 (11). – P. 45–48.
12. Колб В. Б. Определение активности церулоплазмينا в крови / В. Г. Колб, В. С. Камышников // *Справочник по клинической химии*. – Минск : Беларусь, 1982. – С. 290–291.
13. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2000. – 320 с.

7. Zabolotnyi, T.D., Borysenko, A.V., Pupin, T.I. (2013). *Zapalni zakhvoriuvannia parodonta – Inflammatory periodontal diseases*. Lviv: HalDent [in Ukrainian].
8. Girotti, A.W. (2009). Mechanismus of Lipid Peroxidation. *J. FreeRadical Biol. Med.*, 1, 87–95.
9. Machogan, V.R., & Avdeev, O.V. (2011). Pat. № 65771. Sposib modeliuвання parodontytu. Biul. № 23 [Patent for utility model No. 65771: Method of modeling periodontitis. Bull. № 23] [in Ukrainian].
10. Fried, R. (1975). Enzymatik and non-enzymatic assay of superoxideifilii. *Biochemie*, 57 (5), 657–660.
11. Holmes, R., & Masters, C. (1970). Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase. *FEBS Lett*, 11 (11), 45–48.
12. Kolb, V.G., & Kamishnikov, V.S. (1982). *Opredeleniye aktivnosti tsereloplazmina v krovi; Spravochnik po klinicheskoy khimii – Determination of the activity of ceruloplasmin in the blood; Directory of Clinical Chemistry*. Minsk: Belarus [in Russian].
13. Lapach, S.N., Chubenko, A.V., & Babych, P.N. (2000). *Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniyem Excel – Statistical methods in life sciences research using Excel*. Kyiv: Morion [in Russian].