

Dvulit I. P. Influence of phytopreparations on rat parodont state at experimental metabolic syndrome. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017;7(5):970-982. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1210281>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/5394>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 1223 (26.01.2017).
1223 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author(s) 2017;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 05.05.2017. Revised: 23.05.2017. Accepted: 31.05.2017.

UDC 616.4:124.012:616.179

INFLUENCE OF PHYTOPREPARATIONS ON RAT PARODONT STATE AT EXPERIMENTAL METABOLIC SYNDROME

I. P. Dvulit

Lviv National Medical University, Ukraine

Abstract

Aim: To investigate periodontoprotective action of 2 phytopreparations: husks of grapes meal and oak extract at the metabolic syndrome.

Methods: The metabolic syndrome was reproduced into rats by used high fat diet, dysbiosis and introduced cytostatic. The husks of grapes meal was introduced per os in dose 500 mg/kg every days and the oak extract was introduced in dose 2 ml/kg with drink water. The duration of experiment was 38 days. The activities of enzyme were determined in gum (elastase, urease, lysozyme, catalase) and in periodontal bone (alkaline and acid phosphatases). The content of protein and hyaluronic acid were determined into gum, and the content of calcium and protein were determined into bone.

Results: The levels of protein, hyaluronic acid, lysozyme, catalase were reduced into gum, but the levels of urease, elastase were increased at metabolic syndrome. The levels of alkaline phosphatase and content of calcium were reduced in bone but the level of acid phosphatase was increased at metabolic syndrome. Phytopreparations increased the levels of hyaluronic acid, lysozyme, catalase, but reduced levels of urease, elastase into gum, and the level of acid phosphatase into bone.

Conclusion: Phytopreparations has periodontoprotective action at the metabolic

syndrome.

Keywords: metabolic syndrome, periodontum, dysbiosis, inflammation, phytopreparations.

ВПЛИВ ФІТОПРЕПАРАТІВ НА СТАН ПАРОДОНТА ЩУРІВ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

І. П. Двуліт

Львівський національний медичний університет ім. Данили Галицького, Україна

Резюме

За умов експериментального метаболічного синдрому в яснах щурів знижується вміст білка, гіалуронової кислоти, активність лізоцима, але збільшується рівень уреазі і еластази, що свідчить про розвиток дисбіозу і запалення. В кістковій тканині пародонта знижується вміст каталази, збільшується активність кислої фосфатази, що свідчить про зниження мінералізуючої активності. Введення фітопрепаратів: мука з виноградних вичавок (МВВ) і екстракт «Дубовий» здійснюють антидисбіотичну, антизапальну і остеопротекторну дію, причому екстракт в більшій мірі антизапальну, а МВВ – остеопротекторну дію.

Ключові слова: метаболічний синдром, пародонт, дисбіоз, запалення, фітопрепарати.

Вступ

За умов метаболічного синдрому (МС) значно посилюються патологічні процеси в пародонті [1-3]. Застосування при МС, який викликали у щурів шляхом утримання їх на високожировому раціоні на тлі дисбіозу та імунодефіциту [3], комплексного антидисбіотичного засобу квертулін [4] позитивно впливало на ствн пародонта, знижуючи ступінь дисбіозу в яснах і підвищуючи антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ, а також знижуючи ступінь атрофії альвеолярного відростка [3, 5].

Метою даної роботи стало дослідження за умов метаболічного синдрому пародонтопротекторної дії двох фітопрепаратів: муки з виноградних вичавок (МВВ) і екстракту з деревини дуба (екстракт «Дубовий»). Обидва препарати містять фенольні сполуки, тільки МВВ головним чином біофлавоноїди [6], а екстракт «Дубовий» –

фенольні похідні лігніну [7].

Обидва препарати значно дешевші, ніж «Квертулін» і мають дозвіл на застосування в якості харчових добавок з профілактичною дією.

Матеріали і методи дослідження

Метаболічний синдром викликали у щурів за методом [3] шляхом утримання тварин на високожировому раціоні, але замість соняшникової олії використовували пальмову олію (20 % від маси корму). У щурів викликали дисбіоз за допомогою лінкоміцину (60 мг/кг протягом перших 5 днів досліду; лінкоміцин вводили з питною водою). Для посилення розвитку дисбіозу у щурів створювали імунодефіцитний стан за допомогою цитостатика циклофосфана, який вводили в/черевно в дозі 25 мг/кг через тиждень.

Досліди було проведено на 32 білих щурах лінії Вістар (самиці, 11 місяців, жива маса 258-279 г), яких було поділено на 4 рівні групи: 1-а (інтактні) слугувала контролем, у щурів 2-ої, 3-ої і 4-ої груп викликали метаболічний синдром. Щурі 3-ої групи отримували з кормом МВВ (муку з вичавок винограду Одеський чорний) в дозі 500 мг/кг щоденно. Щурі 4-ої групи отримували з питної водою екстракт «Дубовий» в дозі 2,0 мл/кг щоденно. Екстракт «Дубовий» [7] отримували від фірми ТОВ «Серіаль» (Україна).

Тривалість досліду склала 38 днів, після чого щурів піддавали евтаназії під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) шляхом тотальної кровотечі із серця. Отримували сироватку крові, відсікали ясна і виделяли нижню щелепу для визначення ступіня атрофії альвеолярного відростка [8] і для біохімічного дослідження кісткової тканини.

В сироватці крові визначали рівень метаболічних і печінкових маркерів, а саме: вміст глюкози [9], тригліцеридів [10], загального холестерина [10], білірубіна [9] та активність аланінамінотрансферази (АЛТ) [9]. В гомогенаті ясен визначали рівень біохімічних маркерів запалення [11], а саме: вміст малонового діальдегіда (МДА) і активність еластази, активність антиоксидантного фермента каталази [11], вміст білка [12] і гіалуронової кислоти [13]. В гомогенаті ясен визначали також активність уреазі (маркер мікробного обсіменіння) [14] і активність лізоцима (показник стану неспецифічного імунітету) [14].

За співвідношенням активності каталази і вмісту МДА розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ [11], а за співвідношенням відносних активностей уреазі і лізоцима розраховували ступінь дисбіозу за А. П. Левицьким [14].

В гомогенаті кісткової тканини пародонта визначали активність лужної (ЛФ) і

кислої (КФ) фосфатаз [15], вміст білка [12] і кальція [15].

За співвідношенням ЛФ/КФ розраховували мінералізуючий індекс (МІ) [16], а за співвідношенням вмісту кальцію і білка розраховували ступінь мінералізації кісткової тканини [15].

Результати дослідів піддавали стандартній статобробці [17].

Результати та їх обговорення

На рис. 1 показано, що у щурів з МС достовірно зростає в сироватці крові рівень метаболічних (глюкоза, ліпіди) і печінкових (білірубін, АЛТ) маркерів, що є характерним для метаболічного синдрому [18].

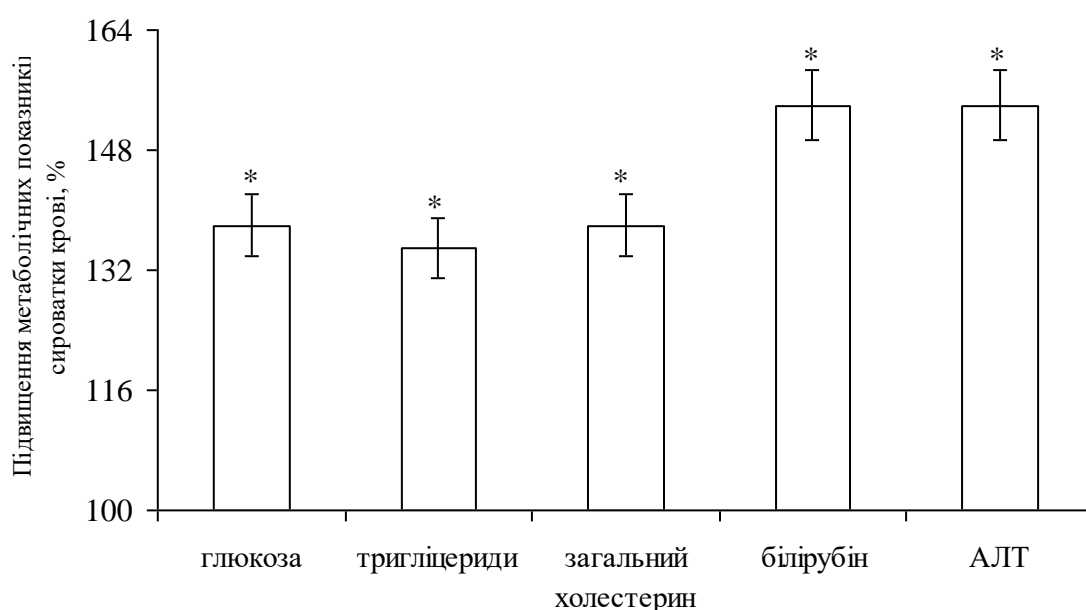


Рис. 1. Підвищення метаболічних і печінкових маркерів в сироватці крові щурів з метаболічним синдромом (* – $p < 0,05$ в порівнянні з контролем = 100 %)

В таблиці 1 представлено результати визначення в яснах рівня біохімічних маркерів запалення (МДА і еластази), які свідчать про їх підвищення (МДА на 23,3 %, еластази на 38,2 %). Обидва застосовані фітопрепарати знижують рівень маркерів запалення, причому значно ефективнішим виявився екстракт «Дубовий».

В таблиці 2 представлено результати визначення в яснах активності каталази та індексу АПІ. З цих даних видно, що активність каталази достовірно знижується за умов МС (на 8,4 %), а рівень АПІ – на 25,1 %. МВВ мало впливає на активність каталази, однак достовірно підвищує індекс АПІ. Екстракт «Дубовий» в меншій мірі підвищує індекс АПІ, а рівень каталази навіть знижує.

Таблиця 1

Вплив фітопрепаратів на рівень маркерів запалення в яснах щурів
з метаболічним синдромом ($M \pm m$, $n=8$)

№№	Групи	МДА, ммоль/кг	Еластаза, мк-кат/кг
1	Контроль	10,3±0,7	28,5±1,4
2	Метаболічний синдром (МС)	12,6±1,11 $p > 0,05$	39,4±5,0 $p < 0,01$
3	МС + МВВ	11,2±1,8 $p > 0,3$ $p_1 > 0,3$	28,6±3,1 $p > 0,8$ $p_1 < 0,05$
4	МС + екстракт «Дубовий»	10,1±1,1 $p > 0,6$ $p_1 > 0,05$	19,7±3,0 $p < 0,05$ $p_1 < 0,01$

Примітки: в таблицях 1-6 p – в порівнянні з гр. 1; p_1 – в порівнянні з гр. 2.

Таблиця 2

Вплив фітопрепаратів на активність каталази та індекс АПІ в яснах щурів
з метаболічним синдромом ($M \pm m$, $n=8$)

№№	Групи	Каталаза, мкат/кг	АПІ, од.
1	Контроль	7,25±0,11	7,04±0,15
2	Метаболічний синдром (МС)	6,64±0,22 $p < 0,05$	5,27±0,18 $p < 0,01$
3	МС + МВВ	6,91±0,29 $p > 0,3$ $p_1 > 0,3$	6,17±0,20 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
4	МС + екстракт «Дубовий»	5,88±0,11 $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	5,82±0,21 $p < 0,01$ $p_1 > 0,05$

В таблиці 3 представлені результати визначення вмісту білка і гіалуронової кислоти в яснах щурів, з яких видно, що обидва показники достовірно знижуються у щурів з МС (білок на 16 %, гіалуронова кислота на 48,4 %). Обидва фітопрепарати нормалізують вміст гіалуронової кислоти, особливо МВВ, однак суттєво не впливають на знижений рівень білка.

В таблиці 4 представлено результати визначення в яснах активності уреазі і лізоцима. Видно, що у щурів з МС достовірно зростає активність уреазі, що свідчить про збільшення бактеріального обсеменіння (на 33,1 %). Обидва фітопрепарати зменшують активність уреазі, особливо МВВ. Активність лізоцима, навпаки, знижується за умов МС, але обидва препарати майже не впливають на її рівень.

Таблиця 3

Вплив фітопрепаратів на вміст білка і гіалуронової кислоти в яснах щурів
з метаболічним синдромом ($M \pm m$, $n=8$)

№№	Групи	Білок, г/кг	Гіалуронова кислота, г/кг
1	Контроль	45,6±2,1	0,66±0,13
2	Метаболічний синдром (МС)	38,3±2,9 $p < 0,05$	0,38±0,06 $p < 0,05$
3	МС + МВВ	35,3±2,4 $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$	0,75±0,10 $p > 0,3$ $p_1 < 0,05$
4	МС + екстракт «Дубовий»	39,0±2,8 $p > 0,05$ $p_1 > 0,3$	0,65±0,28 $p > 0,6$ $p_1 > 0,05$

Таблиця 4

Вплив фітопрепаратів на активність уреазі і лізоцима в яснах щурів
з метаболічним синдромом ($M \pm m$, $n=8$)

№№	Групи	Уреаза мк-кат/кг	Лізоцим, од/кг
1	Контроль	1,33±0,04	926±59
2	Метаболічний синдром (МС)	1,77±0,12 $p < 0,01$	770±14 $p < 0,05$
3	МС + МВВ	0,97±0,17 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	783±30 $p < 0,05$ $p_1 > 0,4$
4	МС + екстракт «Дубовий»	1,24±0,21 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	783±86 $p > 0,05$ $p_1 > 0,5$

Розрахована за цими показниками ступінь дисбіозу в яснах представлена на рис. 2, з якого видно, що у щурів з МС достовірно зростає ступінь дисбіозу, але обидва фітопрепарати майже повертають її до норми, причому краще МВВ.

В таблиці 5 представлено результати визначення в кістковій тканині пародонта активності фосфатаз. Видно, що рівень ЛФ знижується у щурів з МС на 27 % (однак $p > 0,05$). Обидва фітопрепарати не впливають на цей показник. Однак активність КФ достовірно підвищується у щурів з МС (на 55,3 %). Обидва фітопрепарати достовірно знижують активність КФ.

Розрахований за цими показниками мінералізуючий індекс (МІ) показано на рис 3, з якого видно, що у щурів з МС він знижується більше, ніж вдвічі, а фітопрепарати в малій мірі його підвищують.

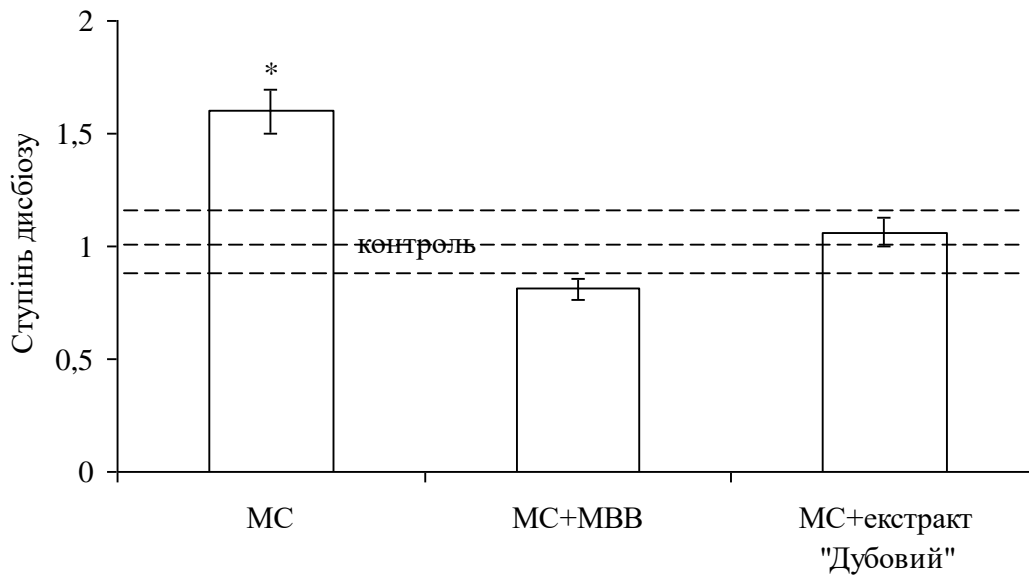


Рис. 2. Вплив фітопрепаратів на ступінь дисбіозу в яснах щурів з метаболічним синдромом (МС)

Таблиця 5

Вплив фітопрепаратів на активність фосфатаз в кістковій тканині пародонта щурів з метаболічним синдромом ($M \pm m$, $n=8$)

№№	Групи	Лужна фосфатаза (ЛФ) мк-кат/кг	Кисла фосфатаза (КФ) мк-кат/кг
1	Контроль	93,0±14,4	3,8±0,2
2	Метаболічний синдром (МС)	67,3±12,6 $p > 0,05$	5,9±0,4 $p < 0,01$
3	МС + MBV	68,1±11,1 $p > 0,05$ $p_1 > 0,7$	4,1±0,2 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
4	МС + екстракт «Дубовий»	67,3±13,7 $p > 0,05$ $p_1 = 1$	4,4±0,4 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$

В таблиці 6 представлено результати визначення в кістковій тканині пародонта вмісту білка і кальцію. Видно, що рівень білка мало змінюється в усіх групах, тоді як вміст кальцію достовірно знижується у щурів з МС (на 14,4 %). MBV не впливає на цей показник, але екстракт «Дубовий» його підвищує практично до норми.

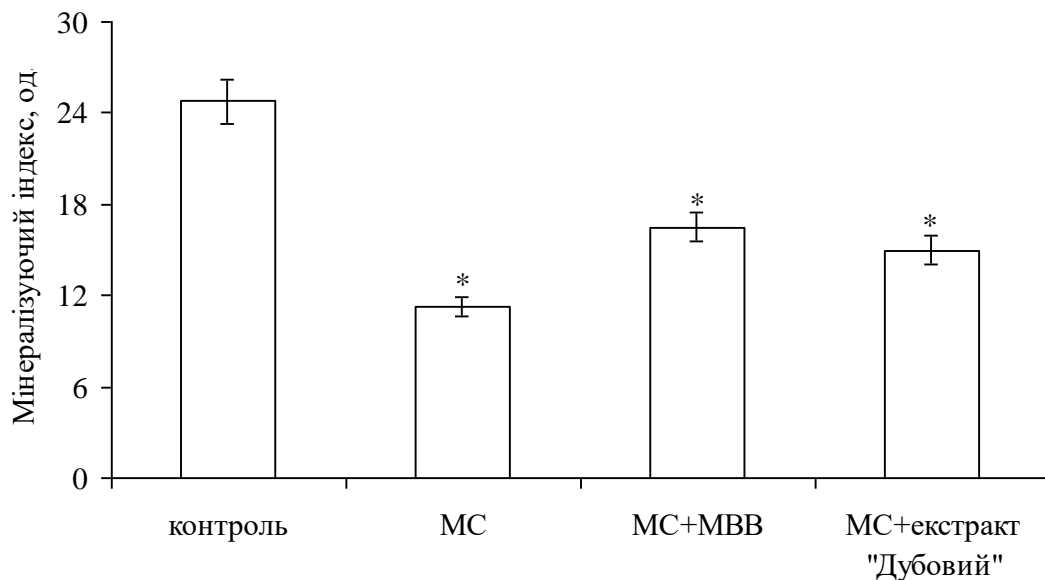


Рис. 3. Вплив фітопрепаратів на мінералізуючий індекс МІ в кістковій тканині пародонта щурів з метаболічним синдромом (МС)

Таблиця 6

Вплив фітопрепаратів на вміст білка і кальція в кістковій тканині пародонта щурів з метаболічним синдромом (M±m, n=8)

№№	Групи	Білок, г/кг	Кальцій, г/кг
1	Контроль	16,5±1,5	114,0±7,2
2	Метаболічний синдром (МС)	18,1±1,1 p>0,3	97,6±3,2 p<0,05
3	МС + МВВ	16,6±0,6 p>0,8 p ₁ >0,05	97,6±3,2 p<0,05 p ₁ =1
4	МС + екстракт «Дубовий»	16,4±1,2 p>0,8 p ₁ >0,2	103,6±3,2 p>0,05_ p ₁ >0,05

Розрахована за цими показниками ступінь мінералізації кісткової тканини представлена на рис. 4, з якого видно, що вона має лише тенденцію до зниження і обидва фітопрепарати суттєво не впливають на цей показник.

Вплив фітопрепаратів на ступінь атрофії альвеолярного відростка нижньої щелепи щурів з МС показано на рис. 5, з якого видно, що обидва фітопрепарати знижують ступінь атрофії (МВВ на 21,5 %, екстракт «Дубовий» на 9,4 %).

Таким чином, проведені нами дослідження показали здатність фітопрепаратів МВВ і екстракт «Дубовий» здійснювати пародонтопротекторну активність за умов

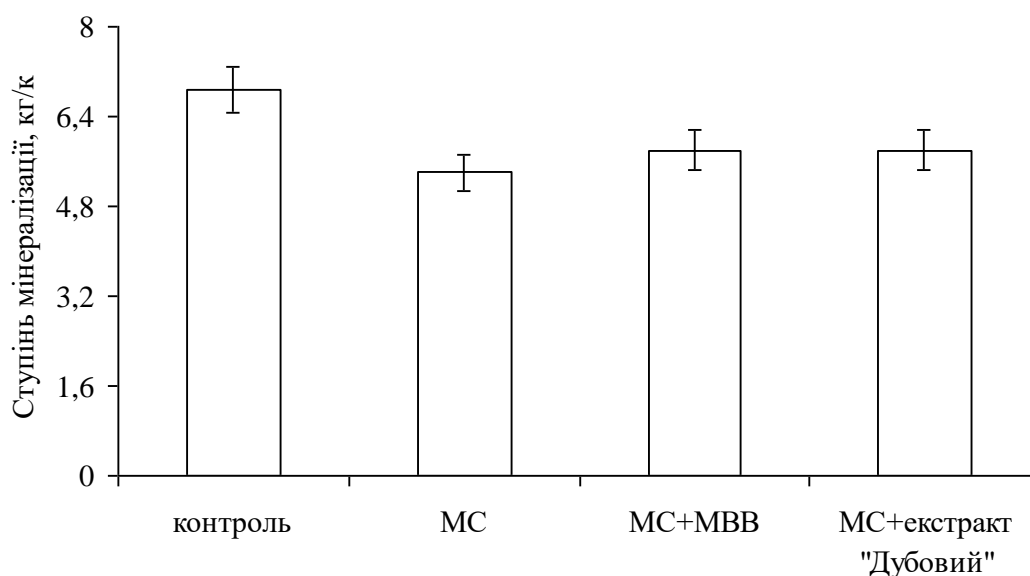


Рис. 4. Вплив фітопрепаратів на ступінь мінералізації кісткової тканини пародонта щурів з метаболічним синдромом (МС)

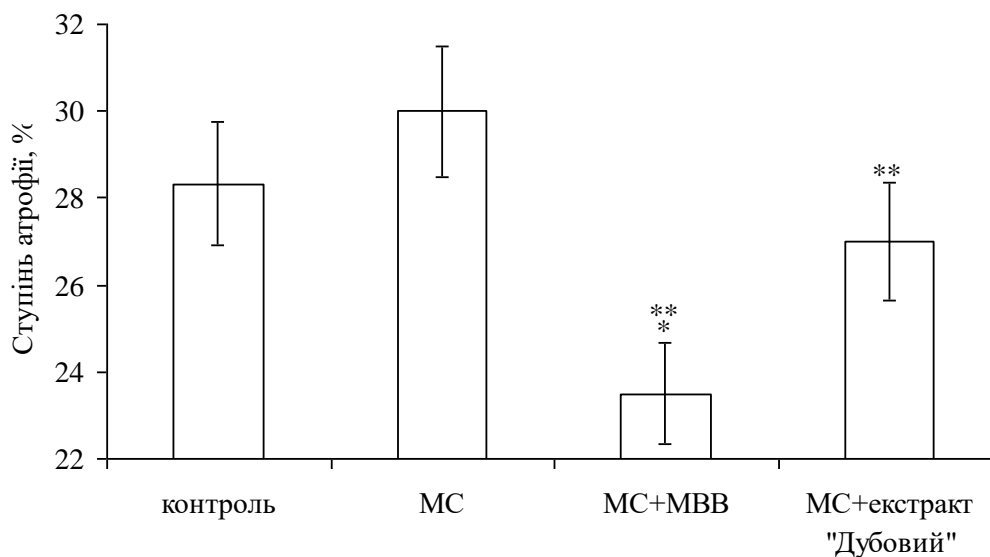


Рис. 5. Вплив фітопрепаратів на ступінь атрофії альвеолярного відростка нижньої щелепи щурів з метаболічним синдромом (МС)

(* – $p < 0,05$ в порівнянні з гр. «контроль»; ** – $p < 0,05$ в порівнянні з гр. «МС»)

експериментального метаболічного синдрому. Встановлено, що екстракт «Дубовий» в більшій мірі справляє антизапальну дію на ясна, тоді як МВВ в більшій мірі виявляє антидисбіотичні і остеопротекторні властивості. Порівнюючи результати дослідження з даними інших авторів [3, 5], можна вважати, що хоча МВВ поступається Квертуліну за антизапальної і антидисбіотичної дії, однак він його перевищує за остеопротекторною активністю, що дає підстави для подальшого його дослідження в клінічній практиці.

Висновки

1. Метаболічний синдром знижує в яснах вміст білка, гіалуринової кислоти і активність лізоцима і каталази, але збільшує рівень уреазы і еластази, що свідчить про підвищення бактеріального обсіменіння і розвиток запально-дистрофічного процесу в пародонті.

2. Метаболічний синдром знижує в кістковій тканині пародонта вміст кальцію і підвищує активність кислоти фосфатази, що свідчить про зниження мінералізуючої активності.

3. Фітопрепарати: мука з виноградних вичавок (МВВ) і екстракт «Дубовий» здійснюють антизапальну, антидисбіотичну і остеопротекторну дію на пародонт, причому МВВ в більшій мірі остеопротекторну, а екстракт «Дубовий» – антизапальну дію.

Література

1. Макаренко О. А. Современные представления о развитии метаболического синдрома и его коррекция биофлавоноидами / О. А. Макаренко, Л. Б. Цевбух, А. П. Левицкий // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2015. – т. 2, № 3 (41-II). – С. 24-32.

2. Метаболічний синдром: діагностика та профілактика в практиці сімейного лікаря / В. І. Ткаченко, Т. О. Багро, Н. В. Видиборець [та ін.] // Ліки України. – 2016. – № 1-2. – С. 43-46.

3. Левицкий А. П. Влияние квертулина на состояние пародонта крыс с экспериментальным метаболическим синдромом / А. П. Левицкий, О. А. Глазунов, И. Н. Меладзе // Journal Health Science. – 2014. – т. 4, № 11. – С. 133-144.

4. Квертулин: витамин Р, пребиотик, гепатопротектор / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. – Одесса: КП ОГТ, 2012. – 20 с.

5. Меладзе И. Н. Пародонтопротекторное действие антидисбиотических препаратов при экспериментальном метаболическом синдроме / И. Н. Меладзе, Т. В. Томилина, Е. П. Ступак // Вісник морської медицини. – 2015. – № 2 (67). – С. 75-81.

6. Биофлавоноидные гепатопротекторы / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, Е. М. Левченко [и др.]. – Одесса: КП ОГТ, 2014. – 86 с.
7. Экстракт дубовый. Технічні умови ТУ У 15.8-19412998-004:2011. Гігієнічний висновок МОЗУ № 05.03.02-06/88168 від 01.09.2011.
8. Деньга О. В., Макаренко О. А., Томилина Т. В. [и др.]. Методы экспериментальной патологии пародонта. В кн. Шнайдер С. А. и Левицкий А. П. Экспериментальная стоматология Ч. I. Экспериментальные модели стоматологических заболеваний. – Одесса: КП ОГТ, 2017. – С. 68-102.
9. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А. М. Горячковский. – Одесса: Экология, 2005. – 3-е изд. – 616 с
10. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / Под ред. Н. У. Тица. – М.: Лабинформ, 1997. – С. 128, 459-460.
11. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости. Методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. – Одесса, 2010. – 16 с.
12. Protein measurement soith Folin phenol reagent / O. N. Lowry, N. J. Rosebrongt, A. L. Porr [et al.]. – J. Biol. Chem. – 1951. – v. 193. – P. 265-275.
13. Асатиани В. С. Новые методы биохимической фотометрии / В. С. Асатиани. – М.: Наука, 1965. – С. 298.
14. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. – К.: ГФЦ, 2007. – 22 с.
15. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Деньга [и др.] – К.: ГФЦ МЗУ, 2005. – 50 с.
16. Ферментативний метод оцінки стану кісткової тканини / А. П. Левицький, О. А. Макаренко, І. В. Ходаков [та ін.] // Одеський медичний журнал. – 2006. – № 3. – С. 17-21.
17. 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.
18. Wiernsperger N. Функция печени и кардио-метаболический синдром / N. Wiernsperger // Диабет, ожиріння, метаболічний синдром. – 2014. – № 1. – С. 37-47.

References

1. Makarenko O. A., Tsevbukh L. B., Levitsky A. P. The modern ideas about the metabolic syndrome development and his correction by bioflavonoids. Aktualnye problemy transportnoi meditsiny. 2015; 2(3(41-II): 24-32.
2. Tkachenko V. I., Bagro T. O., Vydyborec' N. V. [et al.]. The metabolic syndrome: diagnostics and prophylaxis at family doctor practice. Liky Ukrainy. 2016; 1-2: 43-46.
3. Levitsky A. P., Glazunov O. A., Meladze I. N. Influence of quertulin on condition of parodont in rats with experimental metabolic syndrome. Journal Health Sciences. 2014; 4(11): 133-144.
4. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. [et al.]. Kvertulin. Vitamin P, prebiotik, gepatoprotektor ["Querthulin", Vitamin P, prebiotic, hepatoprotector]. Odessa, KP OGT, 2012:20.
5. Meladze I. N., Tomilina T. V., Stupak E. P.. Parodont-protective effect of antidysbiotic drugs at the experimental metabolic syndrome. Visnyk mors'koi' medycyny. 2015; 2(67): 75-81.
6. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Levchenko O. M. [et al.]. Bioflavonoidnye gepatoprotektory [Bioflavonoid hepatoprotectors]. Odessa: KP OGT, 2014: 86.
7. TU U 15.8-19412998-004:2011 «Oak extract». Vysnovok MOZU № 05.03.02-06/88168 vid 01.09.2011
8. Den'ga O. V., Makarenko O. A., Tomilina T. V. [et al.]. The methods of experimental pathology of periodonte. In book: The Experimental stomatology. P. 1. The experimental models of Stomatological diseases (Levitsky A. P., Shnaider S. A.). Odessa, KP OGT, 2017: 68-102.
9. Goryachkovskiy A. M. Klinicheskaya biokhimiya v laboratornoy diagnostike [The clinical biochemistry in laboratorial diagnostics] [3rd ed.]. Odessa, Ekologiya, 2005: 616.
10. Entsiklopediya klinicheskikh laboratornykh testov [The encyclopedia of clinical laboratoric tests]. Red. N. U. Tica. Moskva: Labinform, 1997: 128, 459-460.
11. Levitsky A. P., Denga O. V., Makarenko O. A. [et al.]. Biokhimicheskie markery vospaleniya tkaney rotovoy polosti: metodicheskie rekomendatsii [Biochemical markers of inflammation of oral cavity tissue: method guidelines]. Odessa, KP OGT, 2010: 16.
12. Lowry O. N., Rosebrongt N. J., Porr A. L. [et al.]. Protein measurement soith Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 1951;.193: 265-275.
13. Asatiani V. S. Novye metody biokhimicheskoy fotometrii [The new methods in biochemical photometry]. Moskva, Nauka, 1965: 298.

14. Levitskiy A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. [et al.]. Fermentativnyy metod opredeleniya disbioza polosti rta dlya skringa pro- i prebiotikov: metodicheskie rekomendatsii [Enzymatic methods for determination of oral dysbiosis for screening pro- and prebiotics: method guidelines]. Kiev, GFC, 2007: 22.
15. Levitskiy A. P., Makarenko O. A., Denga O. V. [et al.]. Eksperimentalnye metody issledovaniya stimulyatorov osteogeneza: metodicheskie rekomendatsii [The experimental methods of the study of osteogenesis stimulators]. Kiev, GFK, 2005:50.
16. Levitskiy A. P., Makarenko O. A., Khodakov I. V. [et al.]. The enzymatic method of the estimation of the state of osseous tissue. Odeskiy medychnyy zhurnal. 2006; 3:17-21.
17. Lapach S. N., Chubenko A. V., Babich P. N. Statisticheskiye metody v medicobiologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem Excel [Statistical methods in medical and biological research by using Excel]. Kiev, Morion, 2000: 320.
18. Wiernsperger N. The liver function and cardio-metabolic syndrome. Diabet, ozhyrinnja, metabolichnyj syndrom. 2014; 1: 37-47.