УДК [57.084.1+546.16]:616.31-08-039.71
DOI https://doi.org/10.35220/2078-8916-2025-56-2.9

***Д.С. Шнайдер,***
*аспірант,*
*Одеський національний медичний університет,*
*Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна,*
*індекс 65082*

***А.Е. Дєньга,***
*доктор медичних наук, професор,*
*Державна установа «Інститут стоматології*
*та щелепно-лицевої хірургії Національної академії*
*медичних наук України»,*
*вул. Рішельєвська, 11, м. Одеса, Україна, індекс 65026*

***О.В. Суслова,***
*кандидат медичних наук, доцент,*
*Одеський національний медичний університет,*
*Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна,*
*індекс 65082*

***К.А. Семенов,***
*кандидат медичних наук, доцент,*
*Дніпровський державний медичний університет,*
*вул. Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, індекс 49044*

***Д.К. Семенов,***
*асистент,*
*Дніпровський аграрно-економічний університет,*
*вул. Сергія Єфремова, 25, м. Дніпро, Україна,*
*індекс 49000*

# АНАЛІЗ АКТИВНОСТІ ПРОТЕАЗ У ГОМОГЕНАТАХ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЩЕЛЕП ЩУРІВ НА ТЛІ МОДЕЛЮВАННЯ ФЛЮОРОЗУ, ОРТОДОНТИЧНОГО ВТРУЧАННЯ ТА ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ

*Надлишкове надходження фтору в організм спричиняє розвиток флюорозу, що супроводжується порушеннями кісткового ремоделювання, ураженням зубів і кісток щелеп, а також посиленням деградації білків кісткової тканини. Розроблення ефективних методів профілактики та корекції таких змін є актуальним завданням сучасної стоматології та щелепно-лицьової хірургії.* **Метою дослідження було** *оцінити вплив лікувально-профілактичного комплексу (ЛПК) на активність протеаз у гомогенатах кісткової тканини щелеп щурів за умов моделювання флюорозу та ортодонтичного втручання.* **Матеріали та методи.** *Експерименти проведено на 40 щурах-самцях лінії Wistar (4-місячного віку, масою 280±14 г), розподілених на 4 групи (n=10): інтактну (стандартний раціон); модель флюорозу (60-денне споживання NaF у дозі 10 мг F^–/кг); флюороз + ортодонтичне переміщення зубів на верхній щелепі; флюороз + ортодонтичне переміщення + ЛПК. Ортодонтичне втручання моделювали фіксацією лігатури між молярами на 30 діб за методикою В.Н. Горохівського (2006). У 4-й групі протягом останніх 30 діб перорально вводили ЛПК. У гомогенатах альвеолярної кістки щелеп визначали загальну протеолітичну активність (ЗПА) та активність еластази як маркери деградації білків і резорбції кістки. Статистичне оброблення виконували в програмі STATISTICA 6.1 (t-критерій Стьюдента, p<0,01 вважали значущим).* **Результати дослідження.** *У щурів із флюорозом ЗПА зросла на 16,8%, а активність еластази – на 28,0% відносно інтактних тварин, що вказує на посилення протеолізу в кістковій тканині. Ортодонтичне втручання на тлі флюорозу спричинило подальше підвищення ЗПА на 89,7% порівняно з інтактними та на 62,5% відносно моделі флюорозу, а активність еластази зросла на 80,5% та 41,0% відповідно. Застосування ЛПК зменшувало ЗПА на 49,8% та активність еластази на 41,9% порівняно з нелікованими тваринами, нормалізуючи показники до рівня інтактної групи.* **Висновки.** *Хронічна фтористa інтоксикація та ортодонтичне втручання в щурів індукують виражений дисбаланс протеолітичних процесів у кістковій тканині щелеп – посилення деградації білків (зростання загальної протеолітичної активності) супроводжується активацією деструктивних ферментів (підвищення активності еластази). Застосування запропонованого ЛПК на тлі флюорозу достовірно гальмує протеолітичну активність і запобігає посиленню резорбції кістки за ортодонтичного навантаження, що проявляється відновленням нормальних рівнів ферментів. Отримані результати демонструють виражений протекторний ефект комплексу щодо білкового метаболізму кісткової тканини та обґрунтовують доцільність його подальшого вивчення як засобу профілактики ускладнень флюорозу в ортодонтичній практиці.*

**Ключові слова:** *фтор, флюороз, кісткова тканина, щури, експеримент.*

***D.S. Shnaider,***
*Post-graduate student,*
*Odesa National Medical University,*
*2, Valikhovsky lane, Odesa, Ukraine, postal code 65082*

***A.E. Dienga,***
*Doctor of Medical Sciences, Professor,*
*State Establishment "The Institute of Stomatology*
*and Maxillo-facial Surgery National Academy*
*of Medical Sciences of Ukraine",*
*11, Rishelievska street, Odesa, Ukraine, postal code 65026*

***O.V. Suslova,***
*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor,*
*Odesa National Medical University,*
*2, Valikhovsky lane, Odesa, Ukraine, postal code 65082*

***K.A. Semenov,***
*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor,*
*Dnipro State Medical University,*
*9, Vernadskogo street, Dnipro, Ukraine, postal code 49044*

*© Д.С. Шнайдер, А.Е. Дєньга, О.В. Суслова, К.А. Семенов, Д.К. Семенов, 2025*

***D.K. Semenov,***
*Assistant,*
*Dnipro State Agrarian And Economic University,*
*25, Serhiy Yefremov street, Dnipro, Ukraine, postal code 49000*

## ANALYSIS OF PROTEASE ACTIVITY IN HOMOGENATES OF RAT JAWBONE TISSUE AGAINST THE BACKGROUND OF MODELLING OF FLUOROSIS, ORTHODONTIC INTERVENTION AND THERAPEUTIC AND PREVENTIVE MEASURES

*Excessive fluoride intake into the body leads to the development of fluorosis, which is accompanied by disruptions in bone remodeling, damage to teeth and jaw bones, as well as enhanced degradation of bone tissue proteins. The development of effective methods for prevention and correction of such changes represents a pressing challenge in contemporary dentistry and maxillofacial surgery.* **Aim of the study.** *To experimentally evaluate the impact of a therapeutic-preventive complex (TPC) on protease activity in homogenates of jaw bone tissue in rats under conditions of fluorosis modeling and orthodontic intervention.* **Materials and methods.** *Experiments were conducted on 40 male Wistar rats (4 months of age, body weight 280±14 g), divided into 4 groups (n=10): intact (standard ration); fluorosis model (60-day consumption of NaF at a dose of 10 mg F^–/kg); fluorosis + orthodontic tooth movement on the upper jaw; fluorosis + orthodontic tooth movement + TPC. Orthodontic intervention was modeled by ligature fixation between molars for 30 days according to the method of V.N. Gorokhovsky (2006). In the 4th group, TPC was administered orally during the last 30 days. In homogenates of alveolar jaw bone, total proteolytic activity (TPA) and elastase activity were determined as markers of protein degradation and bone resorption. Statistical analysis was performed using STATISTICA 6.1 software (Student's t-test, p<0.01 was considered significant).* **Results.** *In rats with fluorosis, TPA increased by 16.8%, and elastase activity by 28.0% relative to intact animals, indicating enhanced proteolysis in bone tissue. Orthodontic intervention against the background of fluorosis caused a further increase in TPA by 89.7% compared to intact animals and by 62.5% relative to the fluorosis model, while elastase activity increased by 80.5% and 41.0%, respectively. The application of TPC reduced TPA by 49.8% and elastase activity by 41.9% (compared to untreated animals, normalizing the parameters to the level of the intact group.* **Conclusions.** *Chronic fluoride intoxication and orthodontic intervention in rats induce a pronounced imbalance in proteolytic processes in jaw bone tissue – enhancement of protein degradation (increase in total proteolytic activity) is accompanied by activation of destructive enzymes (increase in elastase activity). The application of the proposed TPC against the background of fluorosis reliably inhibits proteolytic activity and prevents the enhancement of bone resorption under orthodontic load, as manifested by the restoration of normal enzyme levels. The obtained results demonstrate a pronounced protective effect of the complex on bone tissue protein metabolism and substantiate the feasibility of its further investigation as a means for preventing fluorosis complications in orthodontic practice.*
**Key words:** *fluoride, fluorosis, bone tissue, rats, experimental study.*

**Постановка проблеми.** Фтор відіграє суттєву роль у процесах мінералізації кісткової та зубної тканин, але його надмірне надходження в організм спричиняє флюороз – системне захворювання, що супроводжується порушенням кісткового гомеостазу та ураженням скелету, залишаючись актуальною медико-соціальною проблемою в ендемічних районах [1]. Надлишок фтору акумулюється в кістковій тканині, порушуючи баланс ремоделювання. Останні дослідження свідчать, що високі концентрації фтору активують остеокласти, посилюють резорбцію кістки та стимулюють експресію протеолітичних ферментів, як-от матриксні металопротеїнази (MMPs), що призводить до деградації позаклітинного матриксу та зниження механічної міцності кісток [2; 3]. Зокрема, встановлено, що за скелетного флюорозу відбувається генетично зумовлена модуляція гену MMP2, яка асоціюється з підвищеним ризиком кісткових уражень [4].

Ортодонтичне переміщення зубів являє собою керований процес перебудови альвеолярної кістки: під впливом механічних сил у періодонтальній щілині та кістковій тканині формуються ділянки компресії та тензії, де остеокласти здійснюють резорбцію, а остеобласти – синтез нової кісткової матриці [5]. Цей баланс між деструкцією та формуванням є визначальним для успішності ортодонтичного лікування. Системні чинники, включаючи токсичну дію фтору, можуть впливати на швидкість зубного руху шляхом зміни протеолітичної активності в кістці. У контексті флюорозу доведено, що надлишок фтору уповільнює ортодонтичне переміщення зубів за рахунок посилення щільності кістки та пригнічення ангіогенезу в тканинах пародонту, що негативно позначається на ефективності лікування [6]. Проте дані щодо ролі протеаз, зокрема загальної протеолітичної активності та еластази, в цих взаємодіях залишаються фрагментарними, а механізми корекції таких порушень потребують подальшого вивчення.

Сучасні наукові підходи акцентують увагу на розробленні засобів для захисту кісткової тканини від фтор-індукованих змін. Зокрема, показано, що комплексні препарати можуть нормалізувати протеомний профіль кістки, зменшуючи

вираженість токсичних ефектів фтору [7]. Однак інтегровані лікувально-профілактичні комплекси, спрямовані на стабілізацію протеолітичних процесів за умов флюорозу та ортодонтичного навантаження, вивчені недостатньо. Тож завданням нашого дослідження стало вивчення динаміки активності протеаз (загальної протеолітичної активності та еластази як індикаторів деградації кісткової тканини) у щелепах щурів на тлі моделювання флюорозу та ортодонтичного втручання, а також оцінка ефективності нового лікувально-профілактичного комплексу (далі – ЛПК) у корекції цих змін.

**Мета дослідження** – оцінення впливу лікувально-профілактичного комплексу на активність протеаз у гомогенатах кісткової тканини щелеп тварин на тлі моделювання флюорозу та ортодонтичного втручання.

**Матеріал та методи дослідження.** Були проведені експериментальні дослідження, в процесі яких було використано 40 щурів-самців лінії Wistar стадного розведення, 4-місячного віку із середньою масою тіла 280±14 г. Тварин утримували у звичайних умовах віварію за природного освітлення та з вільним доступом до води та їжі. Протягом усього періоду проведення експерименту були чітко дотримані мікрокліматичні умови навколишнього середовища віварію: температура (19–22°С) та вологість (55–70%). Було забезпечено контроль за виконанням санітарно-гігієнічних норм відносно чистоти віварію – проводились регулярні щоденні, щотижневі та генеральні прибирання дезінфекційними засобами. Щури вживали збалансований корм, який містить добові потреби в поживних речовинах, мінералах, вітамінах, мікроелементах. Також щури отримували фільтровану воду, яку одержували за допомогою зворотного осмосу та ультрафіолетового опромінення. Експериментальні дослідження проводили в лабораторії біохімії та віварію ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицьової хірургії Національної академії медичних наук України» (ДУ «ІСЩЛХ НАМН»). Усі експерименти на щурах проводилися за затвердженими в ДУ «ІСЩЛХ НАМН» стандартними операційними процедурами, розробленими відповідно до Методичних вказівок Фармакологічного Комітету МОЗ України та Міжнародних правил роботи з лабораторними тваринами [8; 9].

Тварин розподілили на 4 групи таким чином:

1 – інтактна (стандартний раціон віварію), n=10;

2 – модель фтористої інтоксикації, n=10;

3 – модель фтористої інтоксикації + ортодонтичне переміщення зубів на верхній щелепі, n=10;

4 – модель фтористої інтоксикації + ортодонтичне переміщення зубів на верхній щелепі + комплекс препаратів, n=10.

Фториту інтоксикацію щурам моделювали шляхом введення в питну воду NaF в дозі 10 мг фтору на 1 кг маси тварин.

Моделювання ортодонтичного переміщення зубів у тварин позволяє переміщати вперед моляри верхньої щелепи щурів. Це переміщення є схожим до процесу природного переміщення зубів, що дозволяє вивчати біохімічні механізми в кістковій тканині альвеолярного відростку щелеп за звичайних умов переміщення зубів. На різцях щурів формували виступ для фіксування ортодонтичної лігатури діаметром 0,012″ і довжиною не менше 100 мм, яку вводили у міжзубний проміжок між першим та другим верхніми молярами, при цьому щільно охоплюючи перший моляр. Два інших кінця лігатури фіксували до різця, натяг лігатури контролювали кожні 3 дні (протягом 30 діб). Моделювання було здійснено за моделлю В.Н. Горохівського (2006). Модель експериментального флюорозу та ортодонтичного переміщення зубів використовували окремо і в поєднанні під час застосування ефективності лікувально-профілактичних комплексів.

Тривалість експериментальних досліджень становила 60 діб: спочатку 30 діб вводили з питною водою фтор щурам 2–4-ої груп, потім моделювали ортодонтичне переміщення зубів на верхній щелепі за допомогою фіксації спеціальних пружин на тлі подальшого введення NaF (3–4-та група); щури 2-ої групи одержували NaF протягом 60 діб (модель флюорозу), щурам 4-ої групи на тлі флюорозу та ортодонтичного втручання внутрішньошлунково у вигляді водної суспензії протягом 30 діб вводили ЛПК препаратів. Перша група була контролем – щури отримували фільтровану воду.

Через 60 діб експерименту здійснювали евтаназію тварин під тіопенталовим наркозом (із розрахунку 40 мг/кг) шляхом тотального кровопускання із серця. Після розтину щурів видаляли блоки щелеп для біохімічних досліджень. У гомогенатах альвеолярного відростку щелеп (із розрахунку 75 мг/мл цитратного буферу) визначали активність кісткової еластази та загальну протеолітичну активність [10, с. 50].

Під час статистичного оброблення отриманих результатів використовувалася комп'ютерна програма STATISTICA 6.1. для оцінювання їх

Таблиця 1

**Вплив лікувально-профілактичного комплексу на активність протеаз у гомогенатах кісткової тканини щелеп тварин на тлі моделювання флюорозу та ортодонтичного втручання, M±m**

| Показники / Групи щурів | Загальна протеолітична активність, нкат/кг | Активність еластази, мк-кат/кг |
|---|---|---|
| Інтактна група, n=10 | 200,5±15,2 | 8,2±0,3 |
| Модель флюорозу, n=10 | 234,1±14,8<br>p>0,2 | 10,5±0,7<br>p<0,002 |
| Модель флюорозу +ортодонтичне втручання, n=10 | 380,4±21,6<br>p<0,001<br>$p_1$<0,001 | 14,8±0,9<br>p<0,001<br>$p_1$<0,002 |
| Модель флюорозу +ортодонтичне втручання+ЛПК, n=10 | 190,8±13,5<br>p>0,8<br>$p_1$>0,5<br>$p_2$<0,001 | 8,6±0,4<br>p>0,5<br>$p_1$<0,05<br>$p_2$<0,001 |

*Примітка: p – достовірність відмінностей від показників в інтактній групі; $p_1$ – достовірність відмінностей від показників у групі «Модель флюорозу»; $p_2$ – достовірність відмінностей від показників у групі «Модель флюорозу+ортодонтичне втручання»;*

достовірності та похибок вимірювань. Статистично значущу відмінність між альтернативними кількісними ознаками з розподілом, відповідним нормальному закону, оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Різницю вважали статистично значущою за p<0,01 [11].

**Результати та їх обговорення.** У таблиці 1 представлені результати визначення активності протеаз у кістковій тканині щелеп тварин на тлі експериментального флюорозу та ортодонтичного втручання під впливом ЛПК.

У кістковій тканині щурів 3-ої групи із флюорозом фіксація ортодонтичної лігатури призвела до збільшення загальної протеолітичної активності на 89,7% (p<0,001) відносно даних інтактної групи і на 62,5% ($p_1$<0,001) щодо показників 2-ої групи (модель флюорозу).

Одержані результати дослідження скоріше за все свідчать про збільшену деградацію білків кісткової тканини щелеп за фіксації ортодонтичної лігатури на тлі експериментального флюорозу. У зв'язку з тим, що до складу загальної протеолітичної активності входять усі протеїнази, що чинять дію за pH 7,6, атрофія білкової матриці кісткової тканини переходить поетапно за змінних значень pH, значно збільшену ЗПА в кістковій тканині на тлі флюорозу та після фіксації ортодонтичної лігатури можна з'ясувати суттєвим посиленням деградації кісткової тканини. Ці дані говорять про поганий вплив фіксації ортодонтичної лігатури на фоні флюорозу, що може негативно впливати на ефект ортодонтичного лікування. Щоденне *per os* введення дослідним щурам 4-ої групи ЛПК препаратів попереджувало порушення білкового метаболізму в кістковій тканині щелеп тварин на фоні флюорозу та після ортодонтичного втручання. Так, ЗПА в альвеолярній кістці щурів на тлі отримання композиції препаратів мала зниження в порівнянні з 2-ою групою (модель флюорозу) на 18,5%, суттєве зниження – в порівнянні з даними 3-ої групи на 49,8% ($p_2$<0,001) і сягала даних інтактних тварин.

Таким чином, посилення резорбції кісткової тканини щелеп тварин із флюорозом після ортодонтичного втручання стало підставою вивчення деструктивного ферменту – активності еластази, яка була вірогідно підвищена у 2-й групі на 28,0% (p<0,002) та 3-ій групі на 80,5% (p<0,001) у порівнянні з нормою. У разі щоденного застосування композиції препаратів у дослідних тварин 4-ої групи активність еластази мала вірогідне зниження на 41,9% ($p_2$<0,001) та відповідала рівню інтактних щурів.

Отже, аналіз проведеного нами дослідження говорить про суттєву протекторну дію застосованого лікувально-профілактичного комплексу на альвеолярну кістку щурів із флюорозом після фіксації ортодонтичної лігатури.

Узагальнені результати таблиці 1 підтвердили негативний ефект фіксації ортодонтичної лігатури на тлі флюорозу на активність протеолітичних ферментів, а отже, і на запальну деструкцію білків кісткової тканини щелеп щурів. Застосування ЛПК препаратів у тварин з флюорозом після ортодонтичного втручання показало вира-

жені протекторні властивості на активність протеїназ кісткової тканини альвеолярного відростку експериментальних щурів.

**Висновки:**

1. Надлишкове надходження фтору та ортодонтичне втручання спричиняють дисбаланс протеолітичних процесів у кістковій тканині щелеп щурів. Змодельований флюороз призводить до достовірного підвищення активності еластази на 28,0% (p<0,002) за помірного зростання загальної протеолітичної активності на 16,8% (p>0,2) порівняно з інтактними тваринами, що свідчить про посилення деградації білків і резорбції кістки. Додавання ортодонтичного переміщення зубів на тлі хронічної фторидної інтоксикації поглиблює зазначені порушення: загальна протеолітична активність зростає сумарно на 89,7% (p<0,001 відносно інтактних), а активність еластази – на 80,5% (p<0,001), що вказує на суттєве посилення деструкції білкової матриці кісткової тканини.

2. Застосування лікувально-профілактичного комплексу нормалізує маркери протеолізу за умов флюорозу та ортодонтичного навантаження. Введення ЛПК на тлі надлишку фтору достовірно зменшує загальну протеолітичну активність на 49,8% (p2<0,001) та активність еластази на 41,9% (p2<0,001) відносно необроблених тварин з флюорозом і ортодонтичним втручанням. У результаті показники протеаз повертаються до рівня інтактної групи (ЗПА – 190,8±13,5 нкат/кг, еластаза – 8,6±0,4 мк-кат/кг), що демонструє відновлення балансу між деградацією та стабільністю білків кісткової тканини.

3. Розроблений комплекс препаратів проявляє виражену протекторну дію щодо кісткової тканини за умов експериментального флюорозу. Отримані дані підтверджують ефективність ЛПК у запобіганні фтор-індукованим порушенням протеолітичного метаболізму: препарат стабілізує активність протеаз у разі ортодонтичного втручання та гальмує процеси резорбції кістки. Це обґрунтовує доцільність подальших досліджень цього комплексу як перспективного засобу для профілактики та лікування ускладнень флюорозу в ортодонтичній стоматології.

**Література:**

1. Dhar V., Bhatnagar M. Physiology and toxicity of fluoride. *Indian J Dent Res.* 2009. № 20(3). P. 350-5. DOI: 10.4103/0970-9290.57379.

2. Wei Y., Zeng B., Zhang H., et al. Comparative proteomic analysis of fluoride treated rat bone provides new insights into the molecular mechanisms of fluoride toxicity. *Toxicol Lett.* 2018. № 291. P. 39–50. DOI: 10.1016/j.toxlet.2018.04.006.

3. Pei J., Li B., Liu Y., et al. Matrix Metallopeptidase-2 Gene rs2287074 Polymorphism is Associated with Brick Tea Skeletal Fluorosis in Tibetans and Kazaks, China. *Sci Rep*. 2017. № 7. P. 40086. DOI: 10.1038/srep40086.

4. Chakraborty A., Pramanik S., Datta K., et al. Possible Association Between Polymorphisms in ESR1, COL1A2, BGLAP, SPARC, VDR, and MMP2 Genes and Dental Fluorosis in a Population from an Endemic Region of West Bengal. *Biol Trace Elem Res*. 2022. № 200(11). P. 4641–4653. DOI: 10.1007/s12011-021-03072-8.

5. Krishnan V., Davidovitch Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2006. № 129(4). P. 469.e1-32. DOI: 10.1016/j.ajodo.2005.10.007.

6. Ding X., Lai L., Jia Y., et al. Effects of chronic fluorosis on the expression of VEGF/PI3K/AKT/eNOS in the gingival tissue of rats with orthodontic tooth movement. *Exp Ther Med.* 2024. № 27(3). P. 121. DOI: 10.3892/etm.2024.12409.

7. Everett E.T. Fluoride's effects on the formation of teeth and bones, and the influence of genetics. *J Dent Res.* 2010. №90(5). P. 552-60. DOI: 10.1177/0022034510384626.

8. European convention for the protection of vertebrale animals used for experimental and other scientific purposes. Strasburg. Council of Europe, 1986; 123: 51. URL: https://rm.coe.int/168007a67b

9. Наказ «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах». *Міністерство освіти і науки України.* 2012. № 249.

10. Методи дослідження стану кишечнику та кісток у лабораторних щурів : довідник / О.А. Макаренко та ін. Одеса : видавець С.Л. Назарчук, 2022. 81 с.

11. Рогач І.М., Керецман А.О., Сіткар А.Д. Правильно вибраний метод статистичного аналізу – шлях до якісної інтерпретації даних медичних досліджень. *Науковий вісник Ужгородського університету*. 2017. Вип. 2. С. 124–128.

**References:**

1. Dhar, V., & Bhatnagar, M. (2009). Physiology and toxicity of fluoride. Indian Journal of Dental Research, 20(3), 350–355. DOI: 10.4103/0970-9290.57379

2. Wei, Y., Zeng, B., Zhang, H., Chen, C., Wu, Y., Wang, N., & et al. (2018). Comparative proteomic analysis of fluoride treated rat bone provides new insights into the molecular mechanisms of fluoride toxicity. Toxicology Letters, 291, 39-50. DOI: 10.1016/j.toxlet.2018.04.007

3. Pei, J., Li, B., Liu, Y., Liu, X., Li, M., Chu, Y., & et al. (2017). Matrix Metallopeptidase-2 Gene rs2287074 Polymorphism is Associated with Brick Tea Skeletal Fluorosis in Tibetans and Kazaks, China. Scientific Reports, 7, 40086. DOI: 10.1038/srep40086

4. Chakraborty, A., Pramanik, S., Datta, K., Goswami, R., Ghosh, S., Böhlke, M., & et al. (2022).

Possible Association Between Polymorphisms in ESR1, COL1A2, BGLAP, SPARC, VDR, and MMP2 Genes and Dental Fluorosis in a Population from an Endemic Region of West Bengal. Biological Trace Element Research, 200(11), 4641-4653. DOI: 10.1007/s12011-021-03072-8

5. Krishnan, V., & Davidovitch, Z. (2006). Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, 129(4), 469.e1-32. DOI: 10.1016/j.ajodo.2005.10.007

6. Ding, X., Lai, L., Jia, Y., Liu, X., Hu, J., & Chen, W. (2024). Effects of chronic fluorosis on the expression of VEGF/PI3K/AKT/eNOS in the gingival tissue of rats with orthodontic tooth movement. Experimental and Therapeutic Medicine, 27(3), 121. DOI: 10.3892/etm.2024.12409

7. Everett, E. T. (2010). Fluoride's effects on the formation of teeth and bones, and the influence of genetics. Journal of Dental Research, 90(5), 552–560. DOI: 10.1177/0022034510384626

8. European convention for the protection of vertebrale animals used for experimental and other scientific purposes (1986). Strasburg. Council of Europe. Retrieved from https://rm.coe.int/168007a67b.

9. Nakaz «Pro zatverdzhennya Poryadku provedennya naukovymy ustanovamy doslidiv, eksperymentiv na tvarynakh» [Order of Ukraine «On Approval of the Procedure for Conducting Experiments and Experiments on Animals by Scientific Institutions»]. *Ministerstvo osvity i nauky Ukrayiny – Ministry of Education and Science of Ukraine. zakon.rada.gov.ua*. Retrieved from https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12#Text [in Ukrainian].

10. Makarenko, O.A., Khromahina, L.M., Khodakov, I.V., Maikova, H.V., Mudryk, L.M., Kika, V.V., & Mohilevska, T.V. (2022). Metody doslidzhennia stanu kyshchnyku ta kistok u laboratornykh shchuriv. Dovidnyk [Methods for studying the state of the intestine and bones in laboratory rats. Handbook]. Odesa : vydavets S.L. Nazarchuk.

11. Rohach, I.M., Keretsman, A.O., & Sitkar, A.D. (2017). Pravylno vybranyy metod statystychnoho analizu – shlyakh do yakisnoyi interpretatsiyi danykh medychnykh doslidzhen [Correct choice of statistical analysis method is the key way to high-quality interpritation of data of medical research]. *Naukovyy visnyk Uzhhorodskoho universytetu – Scientific Bulletin of Uzhgorod University*, 2(56), 124-28 [in Ukrainian].