

Міністерство охорони здоров'я України
Вінницький національний медичний університет
імені М.І.Пирогова

ДМИТРЕНКО РОМАН РОМАНОВИЧ

УДК 616.311.2-018.6-055-053:612.22:612.017

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ТКАНИН ЯСЕН ЩУРІВ ПРИ
ГПОБАРИЧНІЙ ГІПОКСІЇ ТА РІЗНІЙ ТРИВАЛОСТІ ФОТОПЕРІОДУ

14.03.03 – нормальна фізіологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Вінниця – 2015

Дисертацією є рукопис
Робота виконана у Буковинському державному медичному університеті
МОЗ України

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Ходоровський Георгій Іванович,
Буковинський державний медичний університет,
професор кафедри фізіології імені Я. Д. Кіршенבלата

Офіційні опоненти:

- доктор біологічних наук, професор
Фурман Юрій Миколайович,
Вінницький національний медичний університет
імені М.І. Пирогова, старший науковий співробітник
науково-дослідного центру

- заслужений діяч науки і техніки України,
доктор медичних наук, професор
Вадзюк Степан Несторович,
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
імені І.Я.Горбачевського МОЗ України»,
завідувач кафедри нормальної фізіології

Захист відбудеться «01» липня 2015 р. о 13⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.600.02 при Вінницькому національному медичному університеті імені М.І. Пирогова (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56)

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56)

Автореферат розісланий « 28 » травня 2015 р.

**Учений секретар
спеціалізованої вченої ради**

І.М. Кириченко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Системний аналіз стану органів ротової порожнини в період 1990-2012 рр. показав, що 3,9 млрд. людей нашої планети уражені карієсом і тяжким пародонтитом (W.Marcenes, E.Bernabe, A.Flaksman et al., 2013). При цьому відмічено, що за 20 останніх років відбувається поступове збільшення кількості людей з тяжкою формою пародонтиту. Стверджується, що така ситуація створила серйозну базу для урядових та неурядових організацій держав для визначення пріоритетів у науці, державному розвитку, політиці та фінансуванні (Murray C.J., Ezzati M., A.D.Flaxman et al., 2012). За даними Всеукраїнської програми «Дбаймо про здорові ясна», яка озвучена на прес-конференції у жовтні 2011 року, на пародонтит і гінгівіт страждає 85,1% населення України.

Ясна (гінгіва) є складовою пародонта. Епітеліальний шар ясен розмежовує внутрішнє середовище пародонта від його зовнішнього середовища, яким є ротова порожнина, і є першою лінією захисту гомеостазу пародонта (M. Del Santo, 2012). Саме з цих міркувань ясна заслуговують на першочергову увагу і вивчення. В Україні в цьому напрямку впродовж кількох десятиліть ведуться дослідження в Інституті стоматології НАМНУ і НМАПО ім. П.Л.Шупика. Клінічними і експериментальними роботами показана роль порушень захисних функцій організму на системному та місцевому рівнях у розвитку хвороб ясен, вивчається проблема фізіологічної резистентності тканин ясен та порожнини рота. Доведено, що фізіологічна резистентність епітелію ясен до дії постійно діючих пошкоджуючих чинників визначається системою захисних механізмів (Ковач І.В., Воскресенский О.Н., 2007), що в процесі регенерації епітеліоцитів ясен та елімінації пошкоджених клітин, поряд із процесами пероксидації ліпідів (ПОЛ) і білків (ПОБ), важливу роль відіграють процеси тканинного протеолізу (Тарасенко І.В., 2010).

Провідні стоматологічні журнали США, Європи, Індії та інших країн містять дані наукових досліджень експериментального та клінічного спрямування щодо зв'язків між тканинами ясен і гормональними чинниками. Увага до таких чинників останніми роками зростає. Особливо щодо взаємозв'язків між функціонуванням пародонта і жіночої статеві системи (Ходоровський Г.І., Дмитренко Р.Р., Ясінська О.В., 2012).

Водночас нами не виявлено досліджень взаємовідносин між тканинами ясен і статтю у віці, коли статеві залози ще не функціонують, тобто у статевонезрілому віці. Відсутні також дослідження особливостей взаємовідносин між тканинами ясен і шишкоподібною залозою (епіфізом мозку). Відомо, що мелатонінергічна система, основною ланкою якої є епіфіз мозку, слугує не тільки для пристосування до дії фотоперіодичнозалежних несприятливих впливів зовнішнього середовища, але й до неперіодичних небезпечних чинників, здійснюючи антистресовий та антиоксидантний захист. Одним із таких чинників є гіпоксія різного походження. Її вплив на ясна потребує дослідження.

У великому масиві експериментальних і клінічних досліджень наводяться показники стану тканин ясен у здорових людей чи інтактних тварин тільки як контрольні величини для порівняння з даними, отриманими у випадках патології клінічної чи штучно створеної в експерименті. Комплексних досліджень статевих і

вікових особливостей тканин ясен у здорових тварин та за умов гіпобаричної гіпоксії і різного функціонального стану епіфіза мозку нами не виявлено, що й зумовило дане дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота є фрагментом планової міжкафедральної наукової роботи Буковинського державного медичного університету “Порушення функціонування центральних та периферичних ланок нейроімуноендокринної системи за умов гіпоксії та інших несприятливих чинників і розробка шляхів корекції патологічних змін” (№ державної реєстрації 0109U003914), завершеної у 2014 році.

Мета дослідження: встановити функціональні особливості тканин ясен статевозрілих і нестатевозрілих щурів різної статі за умов впливу системної переривчастої гіпобаричної гіпоксії і фотоперіоду різної тривалості.

Завдання дослідження:

1. Визначити особливості реагування про- й антиоксидантної, протеолітичної і фібринолітичної систем тканин ясен і плазми крові у статевозрілих самців-щурів на дію фотоперіоду різної тривалості і системну гіпобаричну переривчасту гіпоксію.

2. З'ясувати особливості реагування про- й антиоксидантної, протеолітичної і фібринолітичної систем тканин ясен і плазми крові статевонезрілих щурів за умови дії фотоперіоду різної тривалості та системної переривчастої гіпобаричної гіпоксії.

3. Встановити вікові особливості реагування про- й антиоксидантної, протеолітичної і фібринолітичної систем тканин ясен і плазми крові в щурів за умови поєднаної дії системної переривчастої гіпобаричної гіпоксії і фотоперіоду різної тривалості.

4. Дослідити вплив функціонального стану епіфіза мозку на особливості реагування про- й антиоксидантної, протеолітичної і фібринолітичної систем тканин ясен і плазми крові статевонезрілих самиць щурів.

5. Вивчити статеві особливості поєданого впливу системної переривчастої гіпобаричної гіпоксії та фотоперіоду різної тривалості на про- й антиоксидантну, протеолітичну і фібринолітичну системи тканин ясен і плазми крові в щурів.

Об'єкт дослідження – функціональний стан тканин ясен щурів залежно від дії чинників зовнішнього і внутрішнього середовища організму.

Предмет дослідження – показники прооксидантних процесів і антиоксидантної, протеолітичної і фібринолітичної систем щурів різного віку і статі за умов дії системної переривчастої гіпобаричної гіпоксії і фотоперіоду різної тривалості.

Методи дослідження – фізіологічні (моделювання фотоперіодичних змін та переривчастої гіпобаричної гіпоксії в організмі щурів); біохімічні (показники пероксидного окиснення ліпідів і білків та антиоксидантного захисту, протеолітичних і фібринолітичних процесів); статистичні (метод варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента) – для обробки отриманих цифрових результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше на здорових тваринах (щури різної статі і віку) проведено комплексне дослідження трьох ланок фізіологічної резистентності тканин ясен: 1) пероксидного окиснення ліпідів і білків (вміст окисно-модифікованих білків, дієнових кон'югат, малонового альдегіду);

2) антиоксидантного захисту (активність супероксиддисмутази і каталази);
3) процесів протеолізу і фібринолізу за дії природних чинників: фізіологічної інтенсивності гіпоксії та фотоперіоду різної тривалості.

Уперше встановлено вплив епіфіза мозку на гомеостаз пародонта й систему фізіологічної резистентності тканин ясен, який проявляється віковими і статевими особливостями.

Уперше виявлено реакцію тканин ясен на системну переривчасту гіпобаричну гіпоксію змінами показників пероксидного окиснення ліпідів і білків, активності антиоксидантних ферментів, протеолітичних і фібринолітичних процесів. Уперше виявлені особливості як вікових, так і статевих відмінностей реагування про- й антиоксидантних систем, протеолітичних і фібринолітичних процесів системного (плазма крові) і органного рівня (тканини ясен) на поєднану дію переривчастої гіпобаричної гіпоксії і фотоперіоду різної тривалості.

Практичне значення одержаних результатів. Робота відноситься до фундаментальних досліджень, оскільки вивчення вікових і статевих функціональних особливостей реагування тканин ясен, як першого бар'єру захисту гомеостазу пародонта, на екзогенні та ендогенні чинники організму, є основними питаннями пародонтології.

Результати роботи впроваджені в навчальний процес для студентів стоматологічного і лікувального факультетів при читанні лекцій і проведенні практичних занять із розділу травлення в ротовій порожнині на кафедрах нормальної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського», Буковинського державного медичного університету (м.Чернівці), у навчальному посібнику «Цікава фізіологія» (Куровська В.О., Ходоровський Г.І., 2013).

Особистий внесок здобувача. Здобувачем спільно з керівником дисертаційної роботи сформульована тема, мета та завдання дослідження. Автором роботи проведено пошук джерел літератури за темою дослідження, їх систематизацію та аналіз, складено загальний план та робочу програму експериментів, здійснені всі експериментальні втручання, проведена статистична обробка отриманого матеріалу. Спільно з науковим керівником, автором проведено аналіз та узагальнення отриманих результатів, обґрунтовані висновки дисертації. Особисто здобувачем написані всі розділи дисертаційної роботи та публікації. В опублікованих у співавторстві з науковим керівником та колегами публікаціях участь здобувача є вирішальною.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи, що включені до дисертації, оприлюднено на: Всеукраїнській науково-практичній конференції «Медична наука – 2011» (Полтава, 29-30 листопада, 2011); науково-практичній конференції «Механізми фізіологічних функцій в експерименті та клініці», присвяченій 110-річчю від дня народження заслуженого діяча науки України, професора Я.Д.Склярова (Львів, 2011); III съезде физиологов СНГ «Физиология и здоровье человека», посвященной памяти академика П.Г.Костюка (Ялта, 2011); Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання медицини: сучасний стан та шляхи розвитку» (Львів, 2012); 2-й Міжнародній науковій

конференції «Високогірна гіпоксія і геном», Терскол, Кабардино-Балкарія, Росія, 14-17 серпня, 2012; на VI Конгресі патофізіологів України (Ялта, 5-6 жовтня 2012); 93-й підсумковій науковій конференції професорсько-викладацького персоналу БДМУ, (Чернівці, 2012); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Фізіологія нейроендокринної системи», присвяченої 100-річчю від дня народження професор Я.Д.Кіршенבלата (Чернівці, 2012); 94-й підсумковій науковій конференції професорсько-викладацького персоналу БДМУ, (Чернівці, 2013); 95-й підсумковій науковій конференції професорсько-викладацького персоналу БДМУ, присвяченій 70-річчю БДМУ (Чернівці, 2014).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 18 наукових праць, із них дев'ять статей у фахових виданнях України (одна стаття – одноосібно), одна стаття у фаховому іноземному журналі та вісім тез у матеріалах наукових форумів.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 150 сторінках комп'ютерного тексту (126 сторінок залікового тексту) і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел, який включає 208 найменувань, з яких: 96 – кирилицею та 112 латиницею. Текст дисертації ілюстровано 15 таблицями та 13 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи дослідження. Відповідно до мети та завдань дисертаційної роботи дослідження проведено на 155 білих нелінійних щурах (60 незрілих самиць, 56 незрілих та 39 зрілих самцях).

Для проведення експериментальних досліджень розроблена оригінальна методика з одночасним використанням тривалого переривчастого гіпоксичного впливу зі змінами фотоперіоду різних напрямів. Застосовували гіпобаричну гіпоксію, еквівалентну висоті 4000 м над рівнем моря, яку створювали в прозорій проточній гермокамері шляхом відсмоктування повітря за допомогою вакуумного компресора. Швидкість «підйому» тварин до заданої величини складала 24 км/год. Сеанси гіпоксії, тривалістю 2 год, проводили щодня з 9.00 до 11.00 год упродовж 14 діб на тлі трьох режимів освітлення: природне освітлення, характерне для весняно-літнього періоду із тривалістю світлого періоду доби 15 год, постійне цілодобове освітлення інтенсивністю 500 лк та стала цілодобова темрява. Змінений режим освітлення запроваджували за добу до першого сеансу гіпоксії, за зміненого фотоперіоду тварини перебували 15 діб.

На наступну добу після останнього сеансу гіпоксії тварин виводили з досліду шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Евтаназію проводили вранці з 9.00 до 12.00 год для всіх груп тварин. У центрифужні пробірки із цитратом натрію збирали кров у співвідношенні 1:9 для отримання плазми крові. Кров центрифугували 20 хв при 600 g, плазму крові відбирали і тубували, зберігали при -20°C для проведення подальших досліджень.

Після знекровлення, швидко забрані на холоді наважки тканини ясен гомогенізували в 1,2 мл охолодженого ТРІС-буфера та 2 мл охолодженого

боратного буфера. Гомогенат заморожували та зберігали в морозильній камері при температурі -20°C до проведення лабораторного дослідження.

У гомогенаті тканини ясен та плазмі крові спектрофотометричними методами вивчали показники пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) – вміст малонового альдегіду (МА) (Стальная И.Д.) та дієнових кон'югатів (ДК) (Гаврилов В.Б. и соавт., 1983), активність антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази (СОД) (Чевари С.) та каталази (Королук М.А. и соавт., 1988), інтенсивність процесів окиснювальної модифікації білків (ОМБ) за вмістом продуктів нейтрального та основного характеру (Мещишен І.Ф., 1998), протеолітичну активність за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу, фібринолітичну активність – за лізисом азофібрину (Магальяс В.М. та ін., 2001). Оцінювали показник співвідношення активностей СОД та каталази (СОД/КТ) у тканинах ясен та плазмі крові (Гончар О.О. и соавт., 2005). Оцінювали прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз організму та тканин ясен за інтегральним показником АО/ПО відношення сумарної антиоксидантної активності ферментів СОД та каталази (АО) до сумарного вмісту продуктів ПОЛ (ПО).

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою пакета прикладних програм аналізу даних Microsoft Excel 2003 з використанням методів варіаційної статистики. Визначали середньоарифметичне значення (М), стандартну похибку (m), критерій - t Стьюдента.

Комісія з біомедичної етики Буковинського державного медичного університету МОЗ України (протокол №2 від 18.02.10) встановила, що дослідження виконані з дотриманням основних положень GLP (1981 р.), Правил проведення робіт із використанням експериментальних тварин (1977 р.), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р., Директиви ЄС №609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000 р.

Результати дослідження та їх обговорення. Ураховуючи комплексний характер роботи, яка включала дослідження за 12 показниками функціональних особливостей тканин ясен та плазми крові залежно від статі та віку, дії гіпобаричної гіпоксії й різної тривалості фотоперіоду вважаємо найбільш раціональним і ілюстративним надати отримані дані та провести їх аналіз, орієнтуючись на вік і стать використаних нами тварин.

Результати дослідження на статевозрілих самцях щурів. Аналіз показників ПОЛ та антиоксидантної системи в тканинах ясен і плазмі крові щурів показав, що за умов природного освітлення процеси пероксидного окиснення ліпідів (вміст дієнових кон'югатів – ДК і малонового альдегіду – МА) і активність антиоксидантних ферментів – СОД і каталази, були різними на органному (у тканинах ясен) і системному (у плазмі крові) рівнях. Сумарний вміст продуктів ПОЛ у плазмі крові виявився на 37 % вищим, ніж у тканинах ясен. Таким чином, вільнорадикальні пероксидні процеси в плазмі крові більш виражені порівняно з тканинами ясен. Ймовірно це зумовлено більш потужним антиоксидантним захистом в яснах. Підтвердженням цього є той факт, що сумарна активність СОД і каталази в тканинах ясен (21,31) була майже у два рази вищою, ніж у плазмі крові (11,35). Антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ), який у тканинах ясен був

25,22 ± 0,121, у плазмі крові дорівнював 8,59 ± 0,622. Стоматологи вважають, що АПІ більш адекватно відображає стан процесів пероксидації ліпідів й антиоксидантного захисту в організмі, ніж визначення показників МА і каталази (Левицький А.П. та ін., 2007). У нашому випадку АПІ в тканинах ясен майже в три рази вищий, ніж у плазмі крові. Отже, у дорослих тварин за звичайних умов світлового дня антиоксидантна система в тканинах ясен утримує вільнорадикальний гомеостаз краще, ніж це має місце на системному рівні.

Досліди з утриманням тварин за різної тривалості фотоперіоду показали, що зміни фотоперіоду досить помітно вплинули на показники про- й антиоксидантної системи як у плазмі крові, так і в тканинах ясен.

За умов постійного освітлення показники прооксидантних процесів (ДК, МА) у тканинах ясен зазнали змін і були вищими, ніж у тварин за умов природного освітлення. Одночасно сумарний вміст ДК і МА в плазмі крові тварин зменшився на 18,5 %. Постійне освітлення по-різному вплинуло на стан антиоксидантної системи в тканинах ясен і плазмі крові. Так, у тканинах ясен активність СОД була на 38,6 %, каталази більше ніж у три рази інтенсивнішою, ніж у контрольних тварин. У той же час активність у плазмі крові СОД не змінилася, а каталази знизилася більше ніж у два рази. Зіставлення показників про- й антиоксидантних (АПІ) процесів у плазмі крові та тканинах ясен вказують на те, що під впливом тривалого світлового подразника у тканинах ясен антиоксидантні процеси значно переважали над прооксидантними (АПІ – 31,86 ± 0,880), у той час як у плазмі крові АПІ складав лише 8,33±0,476. Наведене є ще одним доказом різного ступеня реагування прооксидантних і антиоксидантних процесів на організменному (кров) і органному (ясна) рівнях.

Утримання статевозрілих самців в умовах 15-денної постійної темряви, тобто були в стані підвищеної функціональної активності епіфіза, показники ПОЛ (ДК + МА) у плазмі крові були майже в чотири рази більшими, ніж у тканинах ясен. При цьому показники МА і ДК в яснах були значно меншими за їх величини у тварин як за умов природного, так і постійного освітлення. Активність антиоксидантної системи тканини ясен була високою, але дещо меншою, ніж за умов постійного освітлення. Вірогідно мелатонінергічна система, активована темрявою, понижувала інтенсифікацію ліпідної пероксидації в тканинах ясен і адекватно стану ПОЛ утримувала рівень активності антиоксидантних ферментів. Підтвердженням цьому є і величини АПІ в тканинах ясен: 28,65 ± 1,223 за умов темряви і 31,86 ± 0,880 за умов постійного освітлення. Отримані результати певною мірою узгоджуються із даними інших дослідників щодо реагування ПОЛ і антиоксидантних ферментів переднього мозку щурів (Заморський І.І., 2012) та надниркових залоз (Ясінська О.В., 2006) на фотоперіоди різної тривалості. Таким чином, ретино-гіпоталамо-епіфізарна система синхронізує перебіг ліпідної пероксидації і активність антиоксидантних ферментів у тканинах ясен зі змінами тривалості фотоперіоду в зовнішньому середовищі.

У статевозрілих самців під дією переривчастої гіпобаричної гіпоксії вміст окисно-модифікованих білків як основного, так і нейтрального характеру в тканинах ясен був вищим порівняно з інтактними тваринами (на 26,8 %, 30,0 % відповідно)

(табл. 1). Ще більш негативно вплинула на вміст ОМБ у тканинах ясен поєднана дія гіпоксії і постійного освітлення («фізіологічна» пінеалектомія): вміст ОМБ нейтрального характеру підвищився у 2,2 раза, основного – в 1,95 раза, порівняно з інтактними тваринами. За умови поєднаної дії тривалої темряви і гіпоксії ефект гіпоксії був дещо слабшим: вміст ОМБ у тканинах ясен як нейтрального, так і основного характеру був тільки в 1,5 раза вищим порівняно з інтактними тваринами. Таким чином, спроможність тканин ясен протистояти зовнішньому пошкоджувальному фактору – гіпоксії залежить від функціонального стану епіфіза мозку, продукції його гормону мелатоніну.

Таблиця 1

**Вміст окисно-модифікованих білків у тканинах ясен
самців-щурів різного віку (M±m)**

Умови досліджу	n	Вміст продуктів ОМБ	
		370 нм ммоль/г білка	430 нм о.о.г./г білка
Природне освітлення, нормоксія (контроль)	Зрілі, n=5	0,29±0,018	3,18±0,200
	Незрілі, n=8	0,41±0,015**	4,01±0,074
Гіпоксія	Зрілі, n=6	0,36±0,018*	4,14±0,236
	Незрілі, n=8	0,36±0,018	3,65±0,187
Постійне освітлення	Зрілі, n=6	0,48±0,021*	4,63±0,125*
	Незрілі, n=10	0,36±0,010**	3,44±0,175**
Постійне освітлення + гіпоксія	Зрілі, n=6	0,63±0,035*	6,23±0,300*
	Незрілі, n=8	0,37±0,021**	3,96±0,225**
Постійна темрява	Зрілі, n=5	0,62±0,075*	6,54±0,922
	Незрілі, n=8	0,31±0,016*,**	2,94±0,123*,**
Постійна темрява + гіпоксія	Зрілі, n=5	0,45±0,023*	4,82±0,264
	Незрілі, n=9	0,32±0,023*,**	3,13±0,223*,**

Примітки. * – вірогідно порівняно з показниками інтактних тварин ($p < 0,05$); ** – вірогідно порівняно з показниками статевозрілих тварин ($p < 0,05$).

В умовах пригнічення вироблення мелатоніну (постійне освітлення) пошкоджувальна дія гіпоксії на стан тканин ясен є більш значною, ніж в умовах стимулювання секреції мелатоніну епіфізом мозку. Установивши, що під дією гіпобаричної гіпоксії в тканинах ясен статевозрілих щурів відбувається підвищення вмісту продуктів ОМБ та враховуючи те, що окисно-модифіковані білки стають високочутливими до протеолізу, ми провели дослідження стану протеолітичних процесів у тканинах ясен. Виявлено, що гіпоксія за умов природного освітлення знизила активність протеолізу. Зокрема, лізису низькомолекулярних білків - на 26,20%, лізису колагену - на 25,90% і високомолекулярних білків - на 18,85% порівняно з контролем. За умови постійної темряви лізис усіх форм білкових молекул знизився. Постійне освітлення у статевозрілих тварин підвищило інтенсивність лізису колагену на 20,57%. За умови спільної дії постійного освітлення і гіпоксії активність протеолізу в тканинах ясен статевозрілих щурів зменшилася порівняно з дією одного лише постійного освітлення: лізис низькомолекулярних білків - на 20,95%, високомолекулярних білків - на 24,69%,

колагену - на 48,56%, але залишалася високою порівняно з такою за природного освітлення.

Важливо відмітити, що таке підвищення протеолізу збігалось в наших дослідженнях зі значним зростанням у тканинах ясен сумарного рівня ОМБ (нейтрального характеру – на 67,24% і основного – на 45,45%). Тобто, деградація окиснених протеїнів шляхом протеолізу запобігала нагромадженню ОМБ у клітинах ясен, що відповідає існуючому уявленню про зв'язок між процесами ОМБ і протеолізом.

Результати дослідження на статевонезрілих самцях щурів. Перш за все привертають увагу відмінності у величинах досліджуваних показників (біомаркерів) у плазмі крові і тканинах ясен як в інтактних тварин (природне освітлення), так і в тих, що були в умовах постійного освітлення або темряви.

В інтактних тварин активність антиоксидантних ферментів (СОД і каталази) у тканинах ясен була значно вищою, ніж у плазмі крові: СОД – у 2,3 раза, каталази – у чотири рази. Відповідно АО/ПО індекс у тканинах ясен перевищував аналогічний показник у плазмі крові в 4,7 раза. Наведені дані можна оцінити як наявність у тканинах ясен добре вираженої антиоксидантної системи захисту, яка є потужніша ніж на системному (організменному) рівнях. Певною мірою на це ж вказує інтенсивність ОМБ. Сумарний рівень ОМБ у плазмі крові в 4,2 раза вищий, ніж у тканинах ясен. Відомо, що накопичення (рівень) окисненого білка є критерієм пошкодження клітинних мембран активними формами кисню (АФК) (Годованець О.І. та ін., 2007). Отже, вже в інтактних статевонезрілих тварин перебіг вільнорадикальних реакцій у тканинах ясен менш виражений і краще контролюється, ніж на рівні організму (плазма крові) і, відповідно, функціонування антиоксидантного захисту в яснах ефективніше, ніж в організмі в цілому. Відмінності системного й органного (надниркові залози) реагування пероксидного окиснення білків відмічали й інші автори (Ясінська О.В., 2006).

Різна тривалість світлового режиму утримання піддослідних тварин спричинила суттєві зміни відповіді тканин ясен і плазми крові. У тварин, які перебували в умовах постійного світла впродовж експерименту, порівняно з інтактними в яснах дещо збільшився вміст ДК, різко понизилася активність СОД (на 39,7 %), каталази (на 37,6 %) і відповідно зменшився індекс АО/ПО (44,9 %). За цей час вміст окисно-модифікованих білків не зазнавав суттєвих змін. У цих же тварин величини зазначених біомаркерів у плазмі крові порівняно з інтактними тваринами змінилися іншим чином. Зокрема, збільшився вміст ДК (на 12,2 %), і одного з кінцевих продуктів ПОЛ МА (на 7,9 %), практично не зазнали змін активність СОД, каталаза, вміст ОМБ і індекс АО/ПО. Аналіз даних цього фрагменту нашого дослідження дозволяє стверджувати, що під впливом тривалого (15 діб) освітлення в тканинах ясен страждає система антиоксидантного захисту, в той час, як на організменному рівні посилюються процеси вільнорадикального окиснення ліпідів і не зазнає особливих змін система захисту. Такий різний характер реагування тканин ясен і плазми крові на пригнічену тривалим освітленням функцію епіфіза ("фізіологічна" епіфізектомія) вказує на особливу роль цієї ендокринної залози у функціонуванні тканин ясен (Güncü G.N. et al., 2005, Marinho Del Santo, 2012). В умовах нашого дослідження пригнічення мелатонінпродукуючої функції

епіфіза могло бути причиною зниження активності антиоксидантних ферментів (СОД і каталази) і зменшення величини індексу АО/ПО. Отже, можна припустити, що мелатонінергічна система причетна до перебігу стану про- і антиоксидантних процесів у тканинах ясен.

Для підтвердження такого припущення була проведена ще одна серія експериментів з утриманням тварин у цілодобовій темряві впродовж 15 діб.

У тканинах ясен високий рівень функції пінеальної залози за умов тривалого утримання тварин у темряві призвів до посилення процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та накопичення молекулярних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Зокрема, збільшився вміст ДК (на 35,3%) і особливо вміст кінцевого продукту ПОЛ – МА на 47,7%. Разом із тим, посилилася інтенсивність функціонування системи антиоксидантного захисту. Зокрема, активність СОД була вищою за контроль на 8,6%, каталази залишалася такою ж, як у контрольних тварин. Одночасно чітко проявилось зменшення сумарного рівня ОМБ на 25,2 % порівняно з інтактними тваринами, що вказує на зниження перебігу вільнорадикальних реакцій. Прооксидантно-антиоксидантна рівновага в умовах темряви була позитивною, з перевагою антиоксидантних компонентів над прооксидантними (індекс АО/ПО – 28,022). Абсолютна величина індексу АО/ПО значно перевищувала його величину в тканинах ясен тварин, які були під дією 15-добового освітлення (індекс АО/ПО – 21,903).

Привертає увагу те, що за темряви відбувалося посилення у тканинах ясен процесів ПОЛ, ОМБ тільки основного характеру з одночасним підвищенням антиоксидантного захисту, причому тільки за рахунок СОД. Таку складну картину реагування досліджуваних нами маркерів міг створити мелатонін, для якого темрява є потужним стимулом утворення й секреції і який володіє антиоксидантною властивістю (Заморський І.І., 1999). Унаслідок цього в умовах темряви не відбулося очікуваного тотального зниження прооксидантних і підвищення антиоксидантних процесів. У цьому відношенні заслуговують на увагу дані, які вказують, що інтенсивність білкової пероксидації в корі великих півкуль мозку під впливом мелатоніну зменшувалася тільки за умови звичайного освітлення, а при порушенні звичайної фотоперіодичності, тобто при постійному тривалому освітленні або темряві, рівень ОБМ залишався високим. Притому в темряві було зареєстровано навіть підвищення вмісту ОМБ (Заморський І.І., 2012).

Під дією переривчастої гіпобаричної гіпоксії в тканинах ясен статевозрілих щурів, порівняно з інтактними тваринами, не відбулося помітних змін у вмісті продуктів ПОЛ, але значно зменшилася активність СОД і КТ (на 33,1 % і 39,7 % відповідно). Також зменшився інтегральний показник АО/ПО на 27,4 %. Застосована нами гіпоксія зменшила також вміст ОМБ у тканинах ясен і нейтрального характеру на 11,4 %, основного – на 8,98%. У сукупності наведені дані вказують на те, що помірної інтенсивності переривчаста гіпоксія по-різному впливає на перебіг вільнорадикальних реакцій у тканинах ясен щодо ліпідів і білків: не впливаючи істотно на накопичення продуктів ПОЛ, одночасно знижує показники ОМБ. Отримані в роботі дані відповідають існуючій думці про те, що амінокислоти, а не ліпіди, першочергово окиснюються АФК і саме тому окисно-модифіковані

білки розглядаються як одні з ранніх і найбільш чітких маркерів ураження тканин (Pacifici R.E. et al., 1990).

У роботі встановлена також залежність результату впливу гіпоксії на тканини ясен від функціонального стану епіфіза мозку. Проявилось це в тому, що в експериментах із застосуванням поєднаної дії гіпоксії в умовах тривалої темряви (стан підвищеної функціональної активності пінеальної залози) відбулося помітне зниження ОМБ (нейтрального характеру на 23,17 %, основного – на 21,9 %). Отже, застосована в нашій роботі модель екзогенної гіпоксії зменшувала рівень ОМБ тканин ясен, а в поєднанні з темрявою цей ефект проявлявся ще більше (табл.1).

Відомо, що при дії пошкоджувальних факторів, у тому числі гіпоксії, крім ПОЛ, відбувається активація окиснювальної модифікації білків (Groenendaal F., 2000), а після окиснювальної модифікації білок стає високочутливим до протеолізу (Foster-Barber A., 2001). У наших експериментах гіпоксія була фізіологічною та діяла не цілодобово, а інтервально, і спричинила зниження інтенсивності як протеолізу, так і фібринолізу. Зокрема, лізис низькомолекулярних білків у крові знизився вдвічі порівняно з контролем, лізис високомолекулярних білків зазнав дещо менш вираженої депресії – на 16,6 порівняно з контролем, а також зазнав вірогідного зниження лізис колагену. У тканинах ясен найбільш виражені зміни торкнулися лізису колагену – його рівень знизився на 62,4%, лізис високомолекулярних білків знизився вдвічі, у той час як лізис низькомолекулярних білків знизився лише на 23,2%. Сумарна фібринолітична активність (СФА) плазми крові за дії системної гіпобаричної гіпоксії в цілому не змінилась, однак співвідношення ферментативної (ФФА) та неферментативної фібринолітичної активності (НФА) зазнали суттєвої перебудови. У тканинах ясен спостерігалось вірогідне зниження інтенсивності фібринолізу як за рахунок ферментативних, так і неферментативних процесів. Так, зниження СФА вдвічі було результатом вираженого падіння НФА на 56,0% порівняно з контролем. Одночасно з цим виявлено й зниження ФФА - на 42,8 % відповідно.

Такі зміни системного та місцевого фібринолізу та протеолізу можуть бути розцінені як загальні пристосувальні реакції у відповідь на помірну інтервальну гіпобаричну гіпоксію. Однак більш виражені зміни в тканинах ясен, імовірно, свідчать про більшу реактивність місцевого фібринолізу в ротовій порожнині, метою якої є швидке відновлення цілісності слизових оболонок.

Вікові функціональні особливості реагування тканин ясен на переривчасту гіпобаричну гіпоксію і фотоперіод різної тривалості. В інтактних тварин процеси вільнорадикального окиснення ліпідів та накопичення молекулярних продуктів ПОЛ проявилися більш виражено у зрілих самців порівняно зі статевонезрілими самцями: ДК в 1,5 раза, МА в 1,3 раза. В антиоксидантній системі ясен відмінності були в тому, що активність КТ у статевонезрілих щурів була на 16,6 % вище, ніж у зрілих самців. При цьому як у статевонезрілих, так і в зрілих баланс СОД/КТ був майже однаковим. У той же час АПІ (АТ/ПО) у тканинах ясен у статевонезрілих самців-щурів в 1,6 раза більше, ніж у зрілих самців-щурів. Це вказує на існування вже в статевонезрілому віці, тобто до продукції яєчками тестостерону, добре розвиненої системи антиоксидантного захисту.

У статевонезрілих самців порівняно зі зрілими самцями, інтервальна гіпобарична гіпоксія послабила процеси вільнорадикального окиснення ліпідів та накопичення молекулярних продуктів ПОЛ (ДК в 1,6, МА в 1,4 раза) і активність СОД в 1,3 раза. У дорослих самців інтегральний показник (АПІ) не зазнав істотних змін і був вищим, ніж у інтактних незрілих самців, та тих, що зазнали дії гіпоксії, що можна розцінити, як високий рівень напруги антиоксидантної системи.

Перебування тварин за умов постійного освітлення («фізіологічна» епіфізектомія) спричинило більш значне накопичення продуктів ПОЛ, ніж у статевонезрілих тварин. При цьому індекс АО/ПО у зрілих був на 1/3 більше, ніж у незрілих самців. Інтервальна гіпоксія на тлі освітлення ще більше підсилила вікову різницю в реакції тканин ясен. Результати серій експериментів із постійним освітленням і гіпоксією показують, що в зрілих самців адаптивні можливості більш розвинені, ніж у незрілих самців.

Експерименти зі стимуляцією мелатонінутворювальної функції епіфіза показали, що тривале утримання самців у темряві призвело до зростання накопичення продуктів ПОЛ у тканинах ясен статевонезрілих тварин і зменшило активність антиоксидантних ферментів, а також баланс СОД/КТ порівняно зі зрілими тваринами. Інтегральний показник АО/ПО був однаковим як у статевонезрілих, так і в зрілих самців. Однак у статевонезрілих тварин такий стан підтримувався шляхом підвищення ферментативної активності у відповідь на високий рівень продуктів ПОЛ. У зрілих самців утримання в темряві знизило рівень продуктів ПОЛ і активність СОД і КТ у тканинах ясен. Ми вважаємо, що, перш за все, це було результатом антистресового і антиоксидантного впливу мелатоніну. Інтервальна гіпоксія в період утримання самців у темряві мала на тканини ясен обох вікових груп приблизно такий же вплив, як і вплив самотійно застосованої гіпоксії. Порівнюючи результати змін про- і антиоксидантних процесів у тканинах ясен у трьох серіях експерименту, видно позитивний захисний ефект утримання тварин в умовах темряви, тобто, впливу мелатоніну.

Порівняльний за віком аналіз протеолітичних процесів у тканинах ясен під дією гіпобаричної гіпоксії і зміненого фотоперіоду виявив, що під дією гіпоксії величини протеолітичної активності для усіх трьох видів білків у статевонезрілих самців були меншими, ніж у статевозрілих самців. Особливо це проявилось для колагену – на 64,25%, високомолекулярних білків – на 35,82% і меншою мірою для низькомолекулярних білків – на 19,8%. Зміни тривалості фотоперіоду, особливо постійна темрява, виявили ряд вікових особливостей. Так, під дією постійного освітлення тільки лізис низькомолекулярних білків у яснах статевонезрілих самців був на 12,7% меншим, ніж у дорослих самців, інші показники лізису були однаковими в обох вікових групах. За умови темряви спостерігалось значне посилення активності протеолітичної активності в статевонезрілих порівняно зі статевозрілими самцями. Привертає увагу той факт, що лізис колагену був найбільш виразним показником вікових відмінностей протеолізу в яснах. Так, за умови самотійного застосування постійного освітлення та за умови його дії разом із гіпоксією лізис колагену був однаковим у зрілих і незрілих самців, у той час як за умов темряви та її поєднання з гіпоксією лізис колагену був стимульований значно більше (на 51,8%) у незрілих самців порівняно зі зрілими.

Результати дослідження на статевонезрілих самицях. Зміни тривалості фотоперіоду утримання тварин спричинили суттєві зміни в стані проокисно-антиоксидантного стану в тканинах ясен і плазмі крові у тварин цієї групи. Постійне освітлення впродовж 15 діб загальмувало як перебіг вільнорадикальних реакцій, так і активність антиоксидантних ферментів. При цьому більш суттєвими були зміни в активності ферментів у тканинах ясен. Так, активність СОД знизилася в 5,2 раза, каталази приблизно в 2,5 раза і відповідно зменшився в 2,25 раза і показник балансу СОД/Кат у 2,12 раза. Іншою була картина змін у плазмі крові. Постійне освітлення викликало менш виражені зміни як з боку прооксидантних процесів, так і з боку антиоксидантного захисту. Індекс АО/ПО зменшився тільки на 24,4% порівняно з інтактними тваринами.

За умов пригнічення мелатонінпродукувальної функції епіфіза тривалим освітленням у тканинах ясен відбулося зниження активності СОД і каталази, зменшення величини індексу АО/ПО, що вказує на те, що епіфіз має відношення до функціонального стану ясен тварин статевонезрілого віку жіночої статі.

Щоб упевнитися в такому припущенні, була проведена ще одна серія дослідів з утриманням тварин в умовах тривалої темряви впродовж 15 діб. У тканинах ясен таких тварин послабилися процеси накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і частково функціонування антиоксидантних ферментів. На тлі зменшення вмісту ДК (на 37,7%), і кінцевого продукту ПОЛ – МА (на 49,2%) і СОД (майже на 13%) порівняно з інтактними самицями, величини активності СОД і каталази були значно вищими, ніж у тварин, що перебували в умовах постійного освітлення (у 4,5 і 2,3 раза відповідно). Це вказує на те, що за темряви система антиоксидантного захисту ясен функціонує більш ефективно, ніж за умов освітлення. Антиоксидантно-прооксидантне співвідношення в умовах темряви було позитивним (індекс АО/ПО – 71,09). Абсолютна величина індексу АО/ПО значно перевищувала його значення в інтактних самиць у 1,5 раза та тих, що були під дією постійного освітлення в 3,4 раза (табл.2).

Таблиця 2

Інтегральні показники ПОЛ та антиоксидантної системи тканин ясен статевонезрілих щурів різної статі

Умови досліджу	СОД/КТ		АО/ПО	
	Самці	Самиці	Самці	Самиці
Природне освітлення, нормоксія, n=10	2,21±0,130	4,28±0,158*	39,91±2,436	46,53±1,902
Природне освітлення, гіпоксія, n=11	2,51±0,224	6,62±0,277*	28,89±1,711	71,00±4,294*
Постійне освітлення, нормоксія, n=10	2,15±0,115	2,02±0,109	21,90±0,744	20,66±0,717
Постійне освітлення, гіпоксія, n=10	3,76±0,809	1,63±0,267*	33,30±3,429	34,24±3,136
Постійна темрява, нормоксія, n=10	2,85±0,060	3,91±0,095	28,02±0,628	71,10±1,737*
Постійна темрява, гіпоксія, n=9	3,13±0,223	7,19±0,284*	28,76±1,373	64,17±2,369*

Примітка: * вірогідно стосовно показника у тварин протилежної статі (p<0,05).

Статеві особливості дії переривчастої гіпобаричної гіпоксії на вміст окисної модифікації і продуктів пероксидного окиснення ліпідів у тканинах ясен за умов фотоперіоду різної тривалості. За умов звичайного освітлення в тканинах ясен виявлені статеві відмінності у вмісті продуктів ОМБ. Так, вміст окисно-модифікованих білків основного характеру в самців був на 9,0% вищим порівняно із самицями ($p < 0,05$), нейтрального характеру однаковим в обох статей.

Під дією переривчастої гіпобаричної гіпоксії такі відмінності набули ще більш вираженого характеру. У самиць мала місце тільки тенденція до зростання вмісту продуктів ОМБ основного характеру на 25,0% ($p > 0,05$), а в самців значне зниження як продуктів нейтрального характеру ($p < 0,03$), так і основного характеру ОМБ ($p < 0,05$). Це певною мірою узгоджується з існуючою думкою про те, що тестостерон має протекторний вплив на тканини ясен і пародонт у цілому (Güncü G., 2005). Оскільки наші результати по впливу гіпоксії на вміст продуктів ОМБ у тканинах ясен отримані на статевонезрілих тваринах, в яких сім'яники ще не продукують тестостерон, то можливо така протекторна здатність є властивістю організму чоловічої статі, тобто є генетично зумовленою.

У самиць за поєднаної дії гіпоксії та постійної темряви вміст продуктів ОМБ у тканинах ясен був значно меншим (основного характеру – на 22,9%, нейтрального характеру – на 16,5%) порівняно з тваринами, які зазнавали впливу тільки гіпоксії ($p < 0,05$). У самців за аналогічних умов дослідів вміст продуктів ОМБ у тканинах ясен залишався однаковим. У дослідах із застосуванням дії гіпоксії на тлі постійного освітлення («фізіологічна» епіфізектомія) нами не виявлено статевих особливостей вмісту продуктів ОМБ у тканинах ясен.

Результати спонукали нас до необхідності ввести диференціацію факторів, що призводять у осіб різної статі до активації пероксидного окиснення ліпідів і окисної модифікації білків на дві групи: 1) гормональні, ті, що зумовлені відповідними статевими гормонами наявними у відповідній статі; 2) негормональні, ті, що мають місце та діють на тканини ясен у статевонезрілому віці.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове експериментальне вирішення науково-прикладного завдання, що полягає в установленні ролі епіфіза мозку й гіпобаричної гіпоксії в забезпеченні фізіологічної резистентності тканин ясен тварин різного віку і статі.

1. В інтактних щурів за умов природного освітлення і нормобарії в тканинах ясен існує кількаступенева система фізіологічного захисту, яка має вікові та статеві особливості. В яснах вміст дієнових кон'югат, малонового альдегіду, активність супероксиддисмутази й інтегральний показник антиоксидатного захисту в статевонезрілих самиць вищі, ніж у статевонезрілих і зрілих самців; вміст окисно-модифікованих білків найвищий у статевонезрілих і найнижчий у зрілих самців; протеоліз найбільш активний в яснах статевонезрілих самців і найнижчий у статевонезрілих самок. На системну переривчасту гіпобаричну гіпоксію (еквівалентну 4000 м над рівнем моря) активно реагують ясна статевонезрілих самиць, слабше – незрілих самців, а стан ясен зрілих самців залишається без змін.

2. У статевозрілих самців-щурів постійне освітлення (фізіологічна епіфізектомія) посилює у тканинах ясен вільнорадикальне окиснення ліпідів (вміст дієнових кон'югат на 46,2%, малонового альдегіду на 56,9%) і білків (нейтрального характеру – на 67,2%, основного – на 45,5%) та активує протеоліз (колагену на 20,6%) і каталазу, більше ніж у два рази, не змінюючи активності супероксиддисмутази і балансу активності ферментної системи. Переривчаста гіпоксія на тлі освітлення підвищує активність антиоксидантних ферментів, не порушуючи балансу між ними.

Постійна темрява (стимуляція продукції мелатоніну епіфізом мозку) спричиняє протилежний ефект щодо продуктів пероксидного окиснення ліпідів, активності протеолізу та каталази, не змінюючи активності супероксиддисмутази, й підвищує окисну модифікацію білків. Гіпоксія на тлі темряви не призводить до змін антиоксидантно-прооксидантного індексу і показників фізіологічної резистентності ясен.

3. У статевонезрілих самців тривале освітлення підвищує в яснах вміст дієнових кон'югат на 15,3%, не впливаючи на вміст малонового альдегіду, знижує активність супероксиддисмутази на 39,7% і каталази на 37,6%, активує протеоліз (колагену на 58,3%), знижуючи вміст окисно-модифікованих білків, призводить до зниження антиоксидантно-прооксидантного індексу на 45,1% та погіршення фізіологічної резистентності ясен. Гіпоксія на тлі освітлення не змінює характеру реагування ясен.

Постійна темрява підвищує в яснах вміст дієнових кон'югат на 35,3% і малонового альдегіду на 47,7%, знижує активність каталази на 16,0%, але не супероксиддисмутази, порушуючи баланс між цими ферментами, активує протеоліз (колагену – на 59,6%, низькомолекулярних білків – на 31,9%) та зменшує вміст окисно-модифікованих білків (нейтрального характеру – на 23,9%, основного – на 26,6%). Гіпоксія на тлі темряви погіршує баланс між антиоксидантними ферментами і загальний стан системи фізіологічної резистентності за рахунок накопичення вмісту молекулярних продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів.

4. Існують вікові особливості у фізіологічній системі захисту ясен. У зрілих самців за умови змін тривалості фотоперіоду обох напрямків зберігається баланс супероксиддисмутази та каталази і залишається незмінним чи навіть зростає (за постійної темряви) інтегральний показник системи захисту ясен при підвищенні вмісту окисно-модифікованих білків і зниженні інтенсивності протеолітичних процесів; у незрілих самців за темряви пероксидація ліпідів зростає на тлі порушення балансу ферментів антиоксидантного захисту, зниження вмісту окисно-модифікованих білків за підвищеної активності протеолітичних процесів, а індекс системи захисту ясен знижується.

5. У незрілих самиць постійне освітлення знижує в яснах вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів (дієнових кон'югат – на 44,9%, малонового альдегіду – на 51,6%), активність супероксиддисмутази на 80,7%, каталази на 58,8%, зменшує інтегральний показник системи захисту ясен на 52,5% і, відповідно, фізіологічну резистентність тканин ясен. Постійна темрява забезпечує найвищий ступінь захисту ясен: знижує в яснах вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів переважно за рахунок дієнових кон'югат, активність супероксиддисмутази

зростає на 12,93% без порушення балансу в системі антиоксидантних ферментів, активізує протеоліз (колагену – на 67,8%, низькомолекулярних білків – на 62,9%), підвищує антиоксидантно-оксидантний індекс на 52,8%. Усі процеси, що відбуваються в яснах статевонезрілих самиць в умовах темряви показують високий рівень фізіологічної резистентності тканин ясен. Гіпоксія підсилює позитивний ефект постійної темряви на систему захисту ясен за рахунок зниження вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів при низькій активності антиоксидантних ферментів, що є доказом участі мелатоніну епіфіза мозку в антиоксидантній системі захисту тканин ясен статевонезрілих самиць.

6. Існують статеві особливості реакції системи захисту тканин ясен у статевонезрілих тварин. Саміці на постійне освітлення відповідають значним зниженням вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів і активності ферментів антиоксидантного захисту, погіршенням загального стану системи захисту ясен (зменшенням антиоксидантно-оксидантного індексу на 55,6). Самці реагують на освітлення значно слабкіше, порівняно із самицями, зниженням вмісту лише дієнових кон'югат і активності антиоксидантних ферментів, зі зменшенням продуктів окисної модифікації білків на тлі зростання протеолізу колагену.

За тривалої темряви статеві відмінності стану фізіологічної системи захисту ясен проявляються ще виразніше. Саміці реагують на темряву зниженням в яснах вмісту дієнових продуктів пероксидації ліпідів та білків при незмінній активності антиоксидантних ферментів і високим інтегральним показником антиоксидантно-оксидантного стану (на 52,8% вище, ніж за природного освітлення). Самці в темряві реагують високим рівнем вмісту в яснах продуктів пероксидного окиснення ліпідів, без змін активності антиоксидантних ферментів і зниженим рівнем окисно-модифікованих білків та антиоксидантно-оксидантного індексу (на 29,6%). У статевонезрілих тварин функціональний стан епіфіза мозку впливає на фізіологічну систему захисту тканин ясен, і в основному, реалізується в самиць через пероксидне окиснення ліпідів, у самців – через окисну модифікацію білків.

7. Ретино-гіпоталамо-епіфізарна система впливає на систему фізіологічного захисту тканин ясен шляхом зміни інтенсивності вільнорадикального окиснення білків і ліпідів, активності антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутаза, каталаза), протеолітичних процесів та інтенсивності секреції мелатоніну. Ефективність впливу епіфіза мозку на тканини ясен має свої особливості, які зумовлені віком і статтю тварин та екзогенною гіпоксією.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Дмитренко Р.Р. Вплив системної гіпобаричної гіпоксії на процеси протеолізу та фібринолізу в яснах та крові статевонезрілих щурів / Р.Р. Дмитренко, Г.І. Ходоровський, О.В. Ясінська // Актуальні проблеми сучасної медицини. Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2011. - Т. 11, В.4 (36) Ч. II. - С. 75-77. *(Здобувач самостійно провів експериментальне втручання, забір матеріалу, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку)*

2. Дмитренко Р.Р. Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів і білків та активність антиоксидантної системи тканин ясен статевонезрілих щурів за умов гіпобаричної гіпоксії / Р.Р. Дмитренко // Вісник морфології. - 2012. - Т.18, № 1. - С.

111-114 *(Здобувач самостійно здійснив статистичне опрацювання, підготовку матеріалу до друку)*

3. Ходоровський Г.І. Сучасні аспекти досліджень фізіологічної резистентності тканин ясен / Г.І. Ходоровський, Р.Р. Дмитренко, О.В. Ясінська // Клінічна та експериментальна патологія - 2012. - Т. 11, № 3(41), Ч.1. - С. 172-176. *(Входить до переліку міжнародних наукометричних баз)* *(Здобувач проаналізував дані літератури, виконав експеримент, взяв участь у статистичній обробці даних, підготував тези до друку)*

4. Вплив пінеальної залози на біомаркери функціонального стану тканин ясен статевозрілих самців-щурів / Г.І. Ходоровський, Р.Р. Дмитренко, О.В. Ясінська, І.Д. Шкробанець // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. - 2013. - № 3 (63). - С. 49-54. *(Входить до переліку міжнародних наукометричних баз)* *(Здобувач самостійно провів експериментальне втручання, підготовку матеріалів до друку)*

5. Ходоровський Г.І. Вплив фотоперіоду різної тривалості на проокисно-антиоксидантний гомеостаз у тканинах ясен статевонезрілих самок щурів / Г.І. Ходоровський, Р.Р. Дмитренко, О.В. Ясінська // Biomedical and biosocial anthropology. - 2013. - № 21. - С.8-12. *(Здобувач проаналізував дані літератури, виконав експеримент, взяв участь у статистичній обробці даних, підготував тези до друку)*

6. Возрастные особенности про- и антиоксидантных систем тканей десен и их зависимость от гипоксии и функции эпифиза / Г.И. Ходоровский, Р.Р. Дмитренко, Е.В. Ясинская [и др.] // Вестник КазНМУ. - 2013. - №5(1). - С. 269-273. *(Росія)* *(Здобувач самостійно здійснив дослідження, статистичне опрацювання, підготовку матеріалу до друку)*

7. Ходоровський Г.І. Роль ретино-гіпоталамо-епіфізарної системи в про- й антиоксидантних процесах у тканинах ясен статевозрілих самців-щурів / Г.І. Ходоровський, Р.Р. Дмитренко, О.В. Ясінська // Фізіологічний журнал. - 2013. - Т. 59, № 6. - С. 57-62. *(Здобувач самостійно здійснив дослідження, забір матеріалу, статистичне опрацювання, підготовку матеріалу до друку)*

8. Khodorovsky G.I. The sex related dependence of the gingival tissues responses on intermittent hypoxia in immature rats / G.I. Khodorovsky, R.R. Dmitrenko, O.V. Yasinska // Клінічна та експериментальна патологія. - 2013. - Т. 12, № 3(45). - С.197-200. *(Входить до переліку міжнародних наукометричних баз)* *(Здобувач самостійно здійснив дослідження, забір матеріалу, статистичне опрацювання)*

9. Дмитренко Р.Р. Статеві особливості дії переривчастої гіпобаричної гіпоксії на вміст окисно-модифікованих білків у тканинах ясен за умов фотоперіоду різної тривалості / Р.Р. Дмитренко, Г.І. Ходоровський, В.А. Гончаренко // Буковинський медичний вісник. - 2014. - Т. 18, № 1(69). - С. 29-32. *(Здобувач самостійно здійснив дослідження, статистичне опрацювання, підготовку матеріалу до друку)*

10. Вплив ретино-гіпоталамо-епіфізарної системи на протеоліз у тканинах ясен у статевозрілих самців-щурів / Р.Р. Дмитренко, Г.І. Ходоровський, О.В. Ясінська [та ін.] // Клінічна та експериментальна патологія. - 2014. - Т. 13, № 3(49). - С. 194-198. *(Входить до переліку міжнародних наукометричних баз)* *(Здобувач*

самостійно здійснив дослідження, статистичне опрацювання, підготовку матеріалу до друку)

11. Особенности фибринолиза и протеолиза на органном и системном уровнях и их зависимость от гипобарической гипоксии и длительности фотопериода / Г.И. Ходоровский, Р.Р. Дмитренко, Е.В. Ясинская [и др.] // Научные труды III съезда физиологов СНГ (Ялта, Украина, 1-6 октября). - 2011. - С. 206-207. *(Здобувач самостійно здійснив статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку)*

12. Роль ретино-гіпоталамо-епіфізарної системи в реагуванні щитоподібної та надниркових залоз і ясен на переривчасту гіпобаричну гіпоксію / Г.І. Ходоровський, Р.Р. Дмитренко, О.В. Ясінська [та ін.] // Механізми фізіологічний функцій в експерименті та клініці. Тези конф., присвяч. 110-річчю від дня народж. проф. Склярова Я.П. (Львів 23-24.09.2011). - С. 73-74. *(Здобувач самостійно здійснив дослідження, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку)*

13. Дмитренко Р.Р. Особливості змін фібринолітичної активності ясен щурів при гіпобаричній гіпоксії та різної тривалості фотоперіоду / Р.Р. Дмитренко // Клінічна та експериментальна патологія. - 2012. - Т. 11, № 3(41), Ч.1. - С. 184. *(Здобувач самостійно здійснив статистичне опрацювання, підготовку матеріалу до друку)*

14. Фізіологічна резистентність тканин ясен: стан і необхідність подальшого вивчення / Р.Р. Дмитренко, Г.І. Ходоровський, О.В. Ясінська, В.А.Гончаренко // Матеріали Міжнарод. наук.-практ.конф. [«Актуальні питання медицини: сучасний стан та шляхи розвитку»] (м. Львів, 23-34.03.2012). - Львів.: ГО «Львівська медична спільнота», 2012. - С. 26-27.

15. Дмитренко Р.Р. Вплив гіпобаричної гіпоксії на процеси протеолізу, фібринолізу та стан проксидантно-антиоксидантної рівноваги у яснах щурів / Р.Р. Дмитренко, Г.І. Ходоровський О.В. Ясінська // Физиологический журнал. - 2012. – Т. 58, № 4. - С. 57. *(Здобувач самостійно здійснив дослідження, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку)*

16. Дмитренко Р.Р. Особливості змін фібринолітичної активності ясен щурів при гіпобаричній гіпоксії різної тривалості фотоперіоду / Р.Р. Дмитренко // Матеріали 94-ї підсум. наук. конф. проф.-виклад. персоналу БДМУ. - 2013. - С. 184.

17. Дмитренко Р.Р. Вплив пінеальної залози на про- і антиоксидантну систему у тканинах ясен статевонезрілих самців-щурів / Р.Р. Дмитренко // Матеріали 95-ї підсум. наук. конф. проф.-виклад. персоналу БДМУ. - 2014. - С. 202. *(Здобувач самостійно здійснив статистичне опрацювання, підготовку матеріалу до друку)*

18. Meera S.I. Effects of the pineal gland on pro- antioxidative biomarkers of gingival area in the immature male albino rats / S.I. Meera, K.I. Choubey, R.R. Dmitrenko // «Хист». Всеукр. ж. студ. та мол. вчених. – 2014. - Вип. 16. - С. 222. *(Здобувач самостійно здійснив дослідження, забір матеріалу, статистичне опрацювання)*

АНОТАЦІЯ

Дмитренко Р.Р. Функціональні особливості тканин ясен щурів при гіпобаричній гіпоксії та різній тривалості фотоперіоду. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.03 – нормальна фізіологія. – Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2015.

Дисертація присвячена вивченню функціональних особливостей тканин ясен щурів залежно від віку і статі та дії системної переривчастої гіпобаричної гіпоксії та фотоперіоду різної тривалості. Автором уперше на здорових білих щурах - статевозрілих самцях та статевонезрілих самцях і самках - проведено комплексне дослідження трьох ланок фізіологічної резистентності тканин ясен: 1) вміст окисно-модифікованих білків, дієнових кон'югат, малонового альдегіду; 2) активність супероксиддисмутази і каталази; 3) процесів протеолізу і фібринолізу під дією природних чинників гіпоксії та фотоперіоду різної довжини фізіологічної інтенсивності. Уперше встановлено вплив епіфіза мозку на гомеостаз пародонта і систему фізіологічної резистентності тканин ясен, який проявляється віковими і статевими особливостями. Виявлено реакцію тканин ясен на системну переривчасту гіпобаричну гіпоксію змінами показників пероксидного окиснення ліпідів і білків, активності антиоксидантних ферментів, протеолітичних і фібринолітичних процесів. Уперше виявлені особливості як вікових, так і статевих відмінностей реагування про- й антиоксидантних систем, протеолітичних і фібринолітичних процесів системного характеру (плазми крові) і органного рівня (тканини ясен) на поєднану дію переривчастої гіпобаричної гіпоксії і різної довжини фотоперіоду.

Ключові слова: тканини ясен, пероксидне окиснення ліпідів і білків, антиоксидантні ферменти, протеоліз, епіфіз, гіпобарична гіпоксія, фотоперіод, щури, стать, вік.

АННОТАЦИЯ

Дмитренко Р.Р. Функциональные особенности тканей десен крыс при гипобарической гипоксии и разной длительности фотопериода. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – нормальная физиология. – Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И. Пирогова МЗ Украины, Винница, 2015.

Диссертация посвящена изучению функциональных особенностей тканей десен крыс в зависимости от возраста, пола и действия прерывистой гипобарической гипоксии и фотопериода разной продолжительности. Автором впервые на здоровых белых крысах: половозрелых самцах и половонезрелых самцах и самках проведено комплексное исследование трех звеньев физиологической резистентности тканей десен: 1) содержания окислительно-модифицированных белков, диеновых конъюгат, малонового альдегида; 2) активность супероксиддисмутазы и каталазы; 3) процессов протеолиза и фибринолиза под действием естественных факторов умеренной интенсивности: гипобарической гипоксии эквивалентной 4000 м над уровнем моря (2 часа в день на протяжении 14 дней), на фоне трёх режимов освещения (естественное, круглосуточное освещение интенсивностью 500 лк, полной круглосуточной темноты).

Впервые установлено влияние эпифиза мозга на гомеостаз пародонта и

систему физиологической резистентности тканей дёсен, что проявляется возрастными и половыми особенностями.

Впервые выявлено реакцию тканей десны на системную прерывистую (интервальную) гипобарическую гипоксию изменениями показателей перекисного окисления липидов и белков, активности антиоксидантных ферментов, протеолитических и фибринолитических процессов.

В тканях дёсен половозрелых самцов крыс длительное освещение (физиологическая эпифизэктомия) усиливает свободнорадикальное окисление липидов и белков, активирует каталазу и протеолитические процессы. Гипобарическая гипоксия на фоне постоянного освещения повышает активность антиоксидантных ферментов не нарушая баланса между ними. Стимуляция эпифиза длительным затемнением приводит к снижению интенсивности перекисного окисления липидов, повышает окислительную модификацию белков и снижает интенсивность протеолиза, присоединение гипоксии на фоне постоянной темноты не влияет на антиоксидантно-прооксидантный индекс и физиологическую резистентность дёсен.

Впервые выявлены особенности как возрастных, так и половых различий реагирования про- и антиоксидантных систем, протеолитических и фибринолитических процессов системного характера (плазма крови) и органного уровня (ткани десен) на совместное действие прерывистой гипобарической гипоксии и измененного фотопериода. При постоянном освещении у незрелых самцов баланс антиоксидантных ферментов нарушается, а индекс системы защиты дёсен снижается при уменьшенном содержании окисно-модифицированных белков и активном протеолизе.

Темнота интенсифицирует свободнорадикальное окисление липидов и угнетает активность каталазы, нарушает баланс ферментов антиоксидантной защиты.

В работе доказано, что ретино-гипоталамо-эпифизарная система влияет на систему физиологической резистентности тканей дёсен путём изменения интенсивности свободнорадикального окисления белков и липидов, активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза), протеолитических процессов и интенсивности секреции мелатонина. Эффективность влияния эпифиза на ткани дёсен имеет возрастные и половые особенности, а также зависит от влияния гипобарической гипоксии.

Ключевые слова: ткани дёсен, перекисное окисление липидов и белков, антиоксидантные ферменты, протеолиз, эпифиз, гипобарическая гипоксия, фотопериод, крысы, пол, возраст.

ANNOTATION

Dmytrenko R.R. Functional Peculiarities of the gingival tissue of rats in care of hypobaric hypoxia and different duration of photoperiod. – The manuscript.

Dissertation to obtain a scientific degree of the Candidate of Medical Sciences in specialty 14.03.03 – Normal Physiology. – National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya of Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2015.

Dissertation is devoted to the study of functional features of gum tissue of rats according to age and sex and systemic action intermittent hypobaric hypoxia and varying duration of photoperiod. Author at first time performs complex research of three level of physiological resistance of gum tissue of the healthy adult white male rats and immature male and female white rats: 1) contents of oxidatively-modified proteins, diene conjugates, malonic aldehyde; 2) activity of a superoxide dismutase and catalase; 3) proteolysis and fibrinolysis, by the action of natural factors: physiological intensity of hypobaric hypoxia and different duration of photoperiod. For the first time discovered the influence of the pineal gland at the periodontal homeostasis and system of physiological resistance gum tissue, which manifested by the age and sex features. For the first time the reaction of gum tissue to systemic intermittent hypobaric hypoxia manifesting by changes of the indices of lipid peroxidation and protein, activity antioxidant enzymes, proteolytic and fibrinolytic processes, was discovered. For the first time the features of age-dependent, as well as sex-dependent differences of reaction of pro- and antioxidant systems, proteolytic and fibrinolytic processes on systemic nature (plasma) and organ level (gum tissue) on the combined action of intermittent hypobaric hypoxia and different duration of photoperiod was discovered.

Key words: gingival tissues, peroxidation of lipids and proteins, antioxidant enzymes, proteolysis, pineal gland, hypobaric hypoxia, photoperiod, rats, sex, age.

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів

ОМБ – окисна модифікація білків

АФК – активні форми кисню

ДК – дієнові кон'югати

КТ – каталаза

МА – малоновий альдегід

СФА – сумарна фібринолітична активність

ФФА – ферментативна фібринолітична активність

АО/ПО – сумарна антиоксидантна активність (СОД+КТ) до сумарного вмісту продуктів ПОЛ(ДК+МДА)-АПІ

АПІ – антиоксидантно-прооксидантний індекс

ГГНС – гіпоталамо-гіпофізарна наднирникова система

ТВК – тіобарбітурова кислота

ОМБ – окисно-модифіковані білки

НФА – неферментативна
фібринолітична активність

СОД – супероксиддисмутаза

Підписано до друку 26.05.2015 р. Формат 60x84/16. Папір офсетний.
Гарнітура Times New Roman. Друк офсетний.
Ум. друк. арк. 0,9
Тираж 100 пр. Зам. №92-2015.
Віддруковано СПД Лівак У.М. Реєстр № ІФ-28
58018, м. Чернівці, вул. Головна 246/302. Тел.: 543474