

АНТИ- ТА ПРООКСИДАНТНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ЯСЕН ПОТОМСТВА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН, ЩО ЗАЗНАЛИ УМОВ ГІПОКІНЕЗІЇ ПІД ЧАС ВИНОШУВАННЯ

Харківський національний медичний університет (м. Харків)

Дане дослідження є фрагментом планової НДР Харківського національного медичного університету «Удосконалення та розробка нових методів діагностики і лікування хворих з патологією щелепно-лицевої ділянки», № державної реєстрації 0106U001858.

Вступ. Відомо, що вільно радикальне окислення (ВРО) відіграє суттєву роль в процесах метаболізму в організмі людини. З одного боку, ВРО, зокрема переокислення ліпідів, бере участь у регуляції фізико-хімічного стану клітинних мембран і субклітинних структур, а також забезпечує мобілізацію резервів організму, підтримує енергетичний потенціал і метаболічний гомеостаз біологічної системи при звичайній функціональній активності і під час адаптації. З другого боку – надмірна ліпопероксидація порушуючи білково-ліпідну взаємодію, веде до деструктивних процесів в клітинних мембранах, що дискоординує роботу мембранозв'язаних ферментів і трансформує адаптаційні механізми у патогенетичні, і супроводжує всі патологічні процеси в організмі, створюючи, в залежності від тяжкості перебігу захворювання, виражений синдром ліпопероксидації [2, 8]. В фізіологічних умовах інтенсивність процесів ВРО стримується на низькому рівні системою антиоксидантного захисту (АОЗ). Але при різних патологічних станах рівень АОЗ знижується.

Активация процесів ВРО є універсальним механізмом клітинного ушкодження при стресорних впливах, до яких належить і гіпокінезія. Саме обмеження рухової активності за останні 15-20 років віднесено до числа поширених шкідливих етіологічних і патогенетичних факторів середовища [4, 5]. Вплив гіпокінезії на стан функціонування різних систем та органів людини вивчено достатньо глибоко. Відомості ж про наслідки для потомства обмеженої рухової активності матерів в доступній літературі відсутні.

Враховуючи вищезазначене, **метою** даного **дослідження** стала оцінка процесів ВРО та стану АОЗ в тканинах ясен щурів, що народилися від гіпокінетичних самок.

Об'єкт і методи дослідження. Експеримент щодо моделювання умов гіпокінезії було проведено на 12 білих щурах-самичках лінії Вістар з початковою масою $195 \pm 12,8$ г. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших

наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Для відтворення умов гіпокінезії вагітних самок щурів використовували найбільш адекватну, щодо реальних умов, модель, що передбачає розміщення піддослідних тварин в клітках малої площі і об'єма. До контрольної групи (1-а група, $n=6$) увійшли тварини, які утримувалися в індивідуальних просторах клітках у відповідності до норм мінімальної площі на 1 тварину (400 см^2). Піддослідних тварин ($n=6$), яких віднесли до 2-ї групи, розміщували в клітках малої площі і об'єма (267 см^2), що обмежують рухову активність на протязі усього терміну виношування (21 доба). Після пологів на час вигодовування (1 місяць) усі щури з потомством були повернені до стандартних умов перебування у віварію і розміщені згідно традиційних норм. Після завершення експерименту потомство усіх самок ($n=52$) в 3-місячному віці виводили з дослідження під наркозом тіопенталом натрію шляхом декапітації. Матеріалом для подальшого дослідження були ділянки висічених ясен, з яких готували гомогенати на $0,05\text{M}$ трис-НСІ буфере рН 7,5 із розрахунку 20 мг/мл .

Усі маніпуляції з тваринами проводилися у відповідності до «Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними» [6].

У гомогенатах ясен визначали рівень маркерів запалення: концентрацію малонового діальдегіда (МДА) і активність еластази [1], активність уреазі (маркера мікробного обсіменіння) та активність лізоциму (показник неспецифічного імунітета) [9]. Також встановлювали активність антиоксидантного ферменту каталази [1]. За співвідношенням активності уреазі і лізоциму розраховували ступінь дисбіозу (СД) в тканинах ясен [7], а за співвідношенням активності каталази і концентрації МДА – антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ [1].

Результати досліджень опрацьовували за допомогою прикладних програм Statistica 6, Biostat. Дані представлені у вигляді середніх арифметичних значень (M) і стандартних відхилень (m). Для порівняння виборок застосовували t-критерій Стюдента. Рівень значимості вважали за достовірний при $p < 0,05$ [3].

Таблиця
Біохімічні показники ясен щурів за умов гіпокінезії їхніх матерів під час виношування

| Показники | Групи | | 2-га група (дослід) | |
|---------------------|-----------------------|--------------|---------------------|---------------|
| | 1-ша група (контроль) | самці | самці | самиці |
| МДА, ммоль/кг | 19,52±1,68 | 17,29±1,72 | 38,26*±2,54 | 36,76*±2,61 |
| Каталаза, мк-кат/кг | 2,4±0,02 | 2,2±0,04 | 1,5*±0,02 | 1,4*±0,01 |
| АПІ, ум. од | 1,22±0,15 | 1,30±0,24 | 0,39*±0,06 | 0,38*±0,05 |
| Еластаза, мк-кат/кг | 34,29±2,93 | 32,72±2,44 | 43,14±3,74 | 42,18±2,14 |
| Уреаза, мк-кат, кг | 3,93±0,20 | 3,71±0,33 | 7,50*±0,49 | 7,30*±0,46 |
| Лізоцим, ед/кг | 357,26±71,22 | 344,58±31,98 | 232,94*±38,07 | 230,08*±25,55 |
| СД, ум. од | 1,14±0,23 | 1,09±0,17 | 3,31*±0,63 | 3,23*±0,40 |

Примітка: * – достовірність відмінностей між показниками 1 та 2 груп, $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення.
Проведене визначення маркерів про-/антиоксидантної рівноваги та дисбіозу ясен щурів, що народилися від гіпокінетичних матерів дозволило встановити значні зміни рівнів даних показників (**табл.**). Так, під впливом недостатньої рухової активності самиць щурів відбувається інтенсифікація ВРО в тканинах ясен їхніх нащадків, про що свідчить вірогідне підвищення вмісту маркерів запалення: концентрація МДА зросла в 1,96 та 2,12 разів (відповідно у самців та самиць, $p < 0,05$), а еластази – відповідно у 1,25 та 1,28 разів ($p < 0,05$). Відсутність належної рухової активності сприяє достовірному зменшенню в яснах вмісту каталази, одного з головних ферментів АОЗ, який здатен інактивувати перекис водню. Активність даного ферменту у тварин 2-ї групи була нижчою у порівнянні з 1-ю групою в 1,6 рази у особин обох статей, що є статистично значущим ($p < 0,05$). Більш наочно баланс антиоксидантних і прооксидантних показників метаболізму відображає інтегральний індекс АПІ. Як видно з даних таблиці, на тлі обмеження рухової активності індекс АПІ знизився у 3,1 та 3,4 рази відповідно у самців та самиць ($p < 0,05$).

В таблиці також наведені результати визначення маркеру мікробного обмінення – уреазу та лізоциму, активність якого відображає стан неспецифічного імунітету. З представлених даних видно, що активність уреазу у щурів 2-ї групи суттєво зросла і перевищує аналогічні показники в 1-й групі у 1,9 та 2 рази відповідно у самців і самиць ($p < 0,05$). Напроти, активність лізоциму в яснах нащадків гіпокінетичних самиць знизилась практично у 3 рази у особин обох статей ($p < 0,05$). Зміни двох вищезазначених показників обумовили динаміку ступеню дисбіозу, який зріс у 2,9 рази у особин обох статей ($p < 0,05$).

Таким чином, стан недостатньої рухової активності у експериментальних тварин під час періоду виношування викликає глибокі порушення в яснах, які містяться в ослабленні її захисних систем, що підтверджується зниженням активності лізоциму, зниженням індексу АПІ. У наслідок зазначеного, відбувається зростання ступеню дисбіозу та протеолітичної активності. У свою чергу дисбіоз може у подальшому призвести до мікробної інтоксикації, а посилення протеолізу, як відомо, обумовлює розвиток деструкції тканин пародонту.

Висновки.

1. За умов експериментальної гіпокінезії матерів під час виношування розвивається дисбаланс про-/антиоксидантного потенціалу ясен їхніх нащадків.

2. У потомства гіпокінетичних самок знижується рівень захисних систем ясен, виникає дисбіоз, що може у подальшому сприяти розвитку запально-деструктивних процесів в тканинах пародонту.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення особливостей патогенезу змін в тканинах пародонту нащадків, матері яких зазнали умов гіпокінезії під час виношування, мають буди основою для розробки заходів ефективної превентивної профілактики розвитку захворювань тканин пародонту у пацієнтів.

Література

1. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. – Одесса, 2010. – 16 с.
2. Величковский Б. Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды / Б. Т. Величковский // Вестник РАМН. – 2001. – № 6. – С. 45-52.
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
4. Качелаева Ю. В. Гиподинамия и здоровье человека / Ю. В. Качелаева, Р. р. Тахавудинов // В мире научных открытий. – 2010. – № 4-14. – С. 26-27.
5. Лобанов С. А. Гиподинамия как стрессовый фактор / С. А. Лобанов, Т. Ф. Емелева, А. В. Данилов, Е. В. Данилов [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2006. – Т. 1, № 1. – С. 72-74
6. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Ю. М. Кожем'якин, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова]. – Київ: Авіцена, 2002. – 156 с.
7. Пат. 43140 Україна, МПК G01N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин: Пат. 43140 Україна, МПК G01N 33/48 Левицький А. П., Деньга О. В., Селіванська І. О. [та ін.]; Ін-т стоматології НАМН України. – № u200815092; Заявл. 26. 12. 08; Опубл. 10. 08. 09, Бюл. № 15. – 5 с.
8. Сазонтова Т. Г. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма / Т. Г. Сазонтова, Ю. В. Архипенко // Пат. физиолог. и экспер. терапия. – 2007. – № 33. – С. 2-18
9. Ферментный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков: метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. – К.: ГФЦ, 2007. – 22 с.

УДК 616.311.2 – 074:616.015.11:613.65] – 092.9

АНТИ- ТА ПРООКСИДАНТНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ЯСЕН ПОТОМСТВА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН, ЩО ЗАЗНАЛИ УМОВ ГІПОКІНЕЗІЇ ПІД ЧАС ВИНОШУВАННЯ

Слинько Ю. О., Абрамова Л. П., Соколова І. І., Рябоконт Є. М.

Резюме. Експериментальними дослідженнями тканин ясен шурів, що народилися від гіпокінетичних матерів, встановлено порушення активності антиоксидантного захисту, інтенсифікацію процесів вільно радикального окислення і доведено, що це є важливим механізмом метаболічних зсувів. Ослаблення чинників неспецифічного захисту в яснах обумовлює розвиток дисбіозу. У свою чергу дисбіоз може у подальшому призвести до мікробної інтоксикації, а посилення протеолізу, як відомо, обумовлює можливість розвитку деструкції тканин пародонту.

Ключові слова: ясна, тканини пародонту, запалення, дисбіоз, гіпокінезія.

УДК 616.311.2 – 074:616.015.11:613.65] – 092.9

АНТИ- ТА ПРООКСИДАНТНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ДЕСЕН ПОТОМСТВА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЖИВОТНИХ, НАХОДИВШИХСЯ В СОСТОЯНИИ ГИПОКИНЕЗИИ В ПЕРИОД ВЫНАШИВАНИЯ

Слинько Ю. А., Абрамова Л. П., Соколова И. И., Рябоконт Е. Н.

Резюме. Экспериментальными исследованиями тканей десны крыс, родившихся от гипокинетической матерей, установлено нарушение активности антиоксидантной защиты, интенсификация процессов свободнорадикального окисления и доказано, что это является важным механизмом метаболіческих сдвигов. Ослабление факторов неспецифической защиты в деснах обуславливает развитие дисбиоза. В свою очередь дисбиоз может в дальнейшем привести к микробной интоксикации, а усиление протеолиза, как известно, обуславливает возможность развития деструкции тканей пародонта.

Ключевые слова: десна, ткани пародонта, воспаление, дисбиоз, гипокинезия.

UDC 616.311.2 – 074:616.015.11:613.65] – 092.9

Anti- and Prooxidant Potential of Experimental Animals Offspring' Gums in a State of Hypokinesia during Gestation

Slin'ko Y. A., Abramova L. P., Sokolova I. I., Ryabokon' E. N.

Abstract. Introduction. Processes activation is a universal mechanism of cellular damage under stress influences, which include hypokinesia. The limitation of motor activity in the last 15-20 years related to the number of common etiologic and pathogenetic harmful environmental factors. Effect of hypokinesia on the state of functioning of various systems and human organs is studied deeply enough. But the information about the consequences for the offspring of mothers with limited motor activity in the available literature is absent.

The *purpose* of this study is to evaluate the processes of free radical oxidation and antioxidant defense state in the gingival tissues of hypokinetic rats-mothers offspring.

Materials and Methods. The hypokinesia conditions modeling experiment was conducted on 12 white female rats of Wistar. After completion of the experiment all the offspring of females (n= 52) at the age of 3 months were obtained from a study under anesthesia with sodium thiopental by decapitation. Material for further study were homogenates gums, which determined the level of inflammatory markers: the concentration of malonic dialdehyde (MDA) and elastase activity, urease activity (a marker of microbial contamination) and lysozyme activity (a measure of innate immunity). Also the activity of the antioxidant enzyme catalase has being established. The degree of dysbiosis (DM) in the gingival tissues has being calculated by the ratio of urease and lysozyme activity, and the antioxidant – prooxidant index API has being calculated by the ratio of catalase activity and MDA concentration.

Research results. Under the influence of lack of motor activity of female-rats the intensification of free radical oxidation and inhibition of activity of antioxidant defense in the gingival tissues of their offspring. Thus, the concentration of MDA in average increased in 2 times (p < 0.05), elastase – in average in 1.26 times (p < 0.05), catalase activity decreased in 3 times (p < 0.05), and integral antioxidant – prooxidant index decreased in average in 3.3 times (p < 0.05). Also in the gums of hypokinetic mother offspring reported a significant increase in the activity of microbial contamination marker – urease (in 2 times, p < 0.05) and a significant decrease of lysozyme (in 3 times, p < 0.05), reflecting the state of nonspecific resistance of the gums. Last two measures also led to a significant increase in the degree of dysbiosis in the gingival tissues of offspring of hypokinetic females in 2.9 times (p < 0.05).

Conclusion. Experimental hypokinesia mothers during the period of gestation leads to the development of potential imbalance indicators pro-/antioxidant gums of their offspring. Also a reduction in the activity of gums protective systems, that contributes to the development of dysbiosis. These biochemical metabolic disorders may further contribute to the development of inflammatory and destructive processes in periodontal tissues.

Key words: gums, periodontal tissue, inflammation, dysbiosis, hypokinesia.

Рецензент – проф. Скрипніков П. М.

Стаття надійшла 10. 01. 2014 р.