

УДК 612.22:611.311.2:577.342:612.6.057

*Р.Р. Дмитренко, Г.І. Ходоровський, В.А. Гончаренко***СТАТЕВІ ОСОБЛИВОСТІ ДІЇ ПЕРЕРИВЧАСТОЇ ГІПОБАРИЧНОЇ ГІПОКСІЇ НА ВМІСТ ОКИСНО-МОДИФІКОВАНИХ БІЛКІВ У ТКАНИНАХ ЯСЕН ЗА УМОВ ФОТОПЕРІОДУ РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ**

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Резюме. У досліджах на статевонезрілих самцях і самицях білих щурів установили, що переривчаста 14-денна системна гіпобарична гіпоксія (4000 м над рівнем моря, тривалістю 2 години кожного дня) викликає зміну вмісту окисно-модифікованих білків (ОМБ) у тканинах ясен статевонезрілих білих щурів. Результат дії гіпоксії залежить від статі тварин: у самців він проявляється суттєвим зниженням вмісту ОМБ як основного, так і нейтрального характеру, у самок – тільки тенденцією до зниження ОМБ основного характеру.

Функціональний стан шишкоподібної залози, змінюваний утриманням тварин в умовах 14-денного постійного освітлення чи постійної темряви, впливає на

результат дії гіпоксії на вміст ОБМ у тканинах ясен. Високий рівень продукції мелатоніну шишкоподібною залозою (утримання тварин в умовах темряви) посилює понижувальну дію гіпоксії на рівень ОМБ, що проявляється більш виражено в самцях.

Отже, шляхом поєднаної дії переривчастої гіпобаричної гіпоксії і постійної темряви можна запобігти нагромадженню окиснених білків у тканинах ясен статевонезрілих тварин.

Ключові слова: ясна, гіпоксія, фотоперіод, окисно-модифіковані білки, стать.

Вступ. Будь-яка стресова ситуація, включаючи гіпоксію, у нормі супроводжується генерацією активних форм кисню (АФК) [8], які беруть участь у процесах активації факторів транскрипції і відповідних генів, у тому числі тих, що кодують ферменти антиоксиданти [4, 5]. Білкові молекули є мішенями для дії АФК, результатом якої є утворення окиснених продуктів радикальної та нерадикальної природи. Руйнування таких окиснених білків розглядається як прояв антиоксидантного захисту [11]. Більше того, вважають, що нуклеїнові кислоти, а не ліпіди, першочергово окиснюються АФК і тому окисно-модифіковані білки розглядаються як одні із ранніх і найбільш чітких маркерів ураження тканин [13]. У попередніх наших роботах були встановлені статеві особливості реагування молекулярних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і окисно-модифікованих білків (ОМБ) тканин ясен статевонезрілих щурів на фотоперіод різної тривалості [1, 9].

Мета дослідження. Дослідити вплив тривалості переривчастої гіпобаричної гіпоксії на вміст окисно-модифікованих білків у тканинах ясен статевонезрілих щурів різної статі за умов фотоперіоду різної тривалості.

Матеріал і методи. Дослідження проведені на 73 білих лабораторних безпородних самцях і самицях щурів статевонезрілого віку. Використовували модель досліду, яка певною мірою наближена до фізіологічної гіпоксії і включала: гіпобаричну гіпоксію в проточній барокамері, створювану шляхом розрідження повітря до величини, що відповідає висоті 4000 м над рівнем моря зі швидкістю “підйому” 0,4 км/хв; утримання тварин за гіпоксичних умов протягом 14 діб по 2 годин щодня (інтервальне гіпоксичне тренування) за різних варіантів фотоперіодичних змін освітлення, тривалістю експозиції – 14 діб (застосування зміненого світлового режиму розпочинали за добу до застосування гіпоксії).

Зміну активності пінеальної залози моделювали впродовж 14 діб шляхом утримання тварин за умов трьох режимів освітлення: природного (інтактні щури); постійного цілодобового освітлення інтенсивністю 500 лк (стан “фізіологічної” пінеалектомії); постійної цілодобової темряви (стан підвищеної функціональної активності пінеальної залози). Контрольними були інтактні щури, які перебували за умов природного освітлення та звичайного атмосферного тиску. Згідно зі застосованими умовами досліду тварини були розподілені на шість груп. Наступного дня після закінчення гіпоксичного впливу всіх тварин декапітували під легким ефірним наркозом.

Тканини ясен одразу після декапітації щурів забирали на холоді та гомогенізували наважки в 1,2 мл охолодженого Трис-буфера. Гомогенат використовували для визначення біомаркерів стану тканин ясен.

Вміст окисно-модифікованих білків у гомогенатах визначали за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням гідразонів характерного спектра поглинання. Про вміст продуктів ОМБ судили за кількістю утворених альдегідних та кетонних груп. Альдегідо- і кетонпохідні нейтрального характеру визначали при 370 нм, а основного – при 430 нм. Оптичну густину утворених динітрофенілгідразонів реєстрували на фотоелектроколориметрі КФК-3 при 370 нм та 430 нм проти контролю. Вміст ОМБ при $\lambda=370$ нм виражали в ммоль/г білка, при $\lambda=430$ нм – в одиницях оптичної густини на 1 г білка [6].

Всі досліді на тваринах проводили з дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та науковою метою (Страсбург, 1986). Отримані цифрові дані опрацьовували статистично.

Результати дослідження та їх обговорення. За умов звичайного освітлення в тканинах ясен

виявлені статеві відмінності у вмісті продуктів ОМБ (табл.). 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 більше вираженого характеру. Самиці статевонезрілого віку прореагували на 14-денну гіпоксію слабше ніж самці. У самиць мала місце тільки тенденція до зростання вмісту продуктів ОМБ основного характеру на 25,0 % ($p < 0,07$), а в самців значне зниження як продуктів нейтрального характеру ($p < 0,03$), так і основного характеру ОМБ ($p < 0,05$). Реакція тварин на гіпоксію є важливим тестом (критерієм) на спроможність тканин ясен протистояти зовнішнім шкідливим чинникам. Гіпоксія – є одним із таких природних чинників. Зниження рівня парціального тиску кисню веде до продукції активних форм кисню (АФК), утворенню вільнорадикальних сполук, які проявляють сильний пошкоджувальний вплив на клітини і тканини організму. Водночас відомо, що АФК виконують подвійну функцію: надмірна їх продукція веде до окисного стресу і пошкодження структури клітин; низька або помірною їх кількість є необхідною для формування захисту, в тому числі, антиоксидантного [14].

З огляду на наведене, отримані нами результати впливу гіпоксії на вміст продуктів ОМБ у тканинах ясен самиць можна розцінити як неспроможність антиоксидантної системи протистояти підвищенню вмісту продуктів ОМБ, у той час як у самців система захисту виявилася більш ефективною. Це певною мірою узгоджується з існуючою думкою про те, що тестостерон має протекторний вплив на тканини ясен і пародонт у цілому [12]. Оскільки наші результати щодо впливу гіпоксії на вміст продуктів ОМБ у тканинах ясен отримані на статевонезрілих тваринах, в

яких сім'яники ще не продукують тестостерону, то можливо така протекторна здатність є властивістю організму чоловічої статі, тобто є генетично зумовленою.

Ще одним природним чинником, що постійно діє на організм людини і тварин, є фотоперіод.

Через ретино-гіпоталамо-епіфізарну систему тривалість фотоперіоду впливає на синтез і секрецію шишкоподібною залозою мелатоніну – універсального ендогенного адаптогена [7], який суттєво змінює прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз тканин ясен [7, 10]. Утримання тварин за зміни тривалості фотоперіоду мало помітний вплив на вміст окисно-модифікованих білків у тканинах ясен за умови впливу на тварин переривчастої гіпобаричної гіпоксії. Особливо це проявилось в серіях дослідів, коли гіпоксію застосовували в умовах 14-денного утримання тварин в умовах темряви (стимуляція продукції мелатоніну шишкоподібною залозою). У самиць цієї серії дослідів вміст продуктів ОМБ у тканинах ясен був значно меншим (основного характеру – на 22,9 %, нейтрального характеру – на 16,5 %) порівняно із тваринами, які зазнавали впливу тільки гіпоксії ($p < 0,05$). У самців за аналогічних умов дослідів вміст продуктів ОМБ у тканинах ясен залишався однаковим. Водночас у самців поєднана дія гіпоксії і темряви значно знизила вміст продуктів ОМБ у тканинах ясен (ОБМ основного характеру – на 21,9 %; нейтрального – на 23,2 % ($p < 0,05$)) порівняно з інтактними тваринами, які утримувалися в умовах звичайного освітлення і барометричного тиску. У самиць процес ОМБ у тканинах ясен за умов поєднаної дії гіпоксії і темряви був таким же, як і в інтактних тварин.

У дослідях із застосуванням дії гіпоксії на тлі 14-денного освітлення («фізіологічна» епіфізектомія) нами не виявлено статевих особливостей вмісту продуктів ОМБ у тканинах ясен.

Таблиця

Вміст окисно-модифікованих білків у тканинах ясен статевонезрілих самиць і самців білих щурів під дією тривалої гіпобаричної гіпоксії і різної тривалості фотоперіоду ($M \pm m$)

Умови дослідів	Стать тварин	n	Вміст продуктів ОМБ	
			370 нм ммоль/г білка	430 нм о.о.г/г білка
Інтактні	Самці	8	0,41±0,015	4,01±0,074
	Самиці	10	0,37±0,031	3,63±0,275
Гіпоксія	Самці	8	* 0,36±0,018	*3,65±0,187
	Самиці	10	0,41±0,021	4,55±0,227
Гіпоксія+постійне освітлення	Самці	8	0,36±0,021	3,96±0,225
	Самиці	10	+ 0,36±0,029	4,01±0,382
Гіпоксія+постійна темрява	Самці	9	* 0,31±0,023	*/** 3,13±0,223
	Самиці	10	+ 0,34±0,025	*** 3,51±0,248

Примітка. Вірогідність різниці порівняно: ($p < 0,05$) з показниками інтактних тварин *; з показниками «постійне освітлення+гіпоксія» **; з показниками групи «гіпоксія» *** ($p < 0,06$) з показниками групи гіпоксія⁺

Результати даного і наших попередніх досліджень [1, 9] спонукали нас до необхідності увести диференціацію чинників, що призводять у особин різної статі до активації пероксидного окиснення ліпідів і окисної модифікації білків на дві групи: 1) гормональні – ті, що зумовлені відповідними статевими гормонами, наявними у відповідної статі; 2) негормональні – ті, що мають місце та діють на тканини ясен у статевонезрілому віці.

Результати роботи показують, що вміст окиснених протеїнів у тканинах ясен змінюється під впливом переривчастої (інтервальної) гіпобаричної гіпоксії, а також залежить від тривалості фотоперіоду (функціональної активності шишкоподібної залози). Ураховуючи, що окисно-модифіковані білки підпадають під руйнацію протеаз, які високочутливі до окиснених білків і шляхом протеолізу захищають клітини від руйнації, становить інтерес вивчення протеолітичної системи тканин ясен під впливом поєднаної дії гіпоксії і фотоперіоду.

Висновки

1. Переривчаста 14-денна системна гіпобарична гіпоксія (4000 м над рівнем моря) викликає зміну рівня (вмісту) окисно-модифікованих білків (ОМБ) у тканинах ясен статовонезрілих білих шурів. Результат дії гіпоксії залежить від статі тварини: у самців він проявляється суттєвим зниженням вмісту ОМБ як основного, так і нейтрального характеру, у самок – тільки тенденцією до зниження ОМБ основного характеру.

2. Функціональний стан шишкоподібної залози впливає на результат дії гіпоксії на вміст ОМБ у тканинах ясен. Високий рівень продукції мелатоніну шишкоподібною залозою (утримання тварин в умовах постійної темряви) посилює понижувальну дію гіпоксії на рівень ОМБ, що проявляється більш виражено в самців.

Перспективи подальших досліджень. Подальші порівняльні дослідження процесів протеолізу в тканинах ясен статовозрілих і статовонезрілих особин можуть надати додаткову інформацію щодо запропонованої нами диференціації чинників статових особливостей тканин ясен.

Література

1. Вплив пінеальної залози на біомаркери функціонального стану тканин ясен статовозрілих самців шурів /

- Г.І. Ходоровський, Р.Р. Дмитренко, О.В. Ясінська [та ін.] // *Експерим. та клін. фізіол. і біохімія.* – 2013. – № 3 (63). – С. 49-54.
2. Дікал М.В. Окиснювальна модифікація білків у печінці шурів за умов уведення 2,4-динітрофенолу / М.В. Дікал // *Клін. та експерим. патол.* – 2013. – Т. XII, № 2 (44). – С. 71-73.
3. Дубиніна О.Ю. Окиснювальний стрес і окиснювальна модифікація білків / О.Ю. Дубиніна // *Мед. хімія.* – 2001. – Т. 3, № 2. – С. 5-12.
4. Изменение экспрессии генов антиоксидантных ферментов, гемоксигеназы-1, bcl-2, bcl-xl и уровня активных форм кислорода при формировании резистентности опухолевых клеток к доксорубину / Е.В. Калинина, Н.Н. Чернов, А.Н. Саприн [и др.] // *Биохимия.* – 2006. – Т. 71, вып. 11. – С. 1475-1487.
5. Ляхович В. В. Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксидант-респонсивный элемент / В.В. Ляхович, В.А. Вавилин, Н.К. Зенков // *Биохимия.* – 2006. – Т. 71, вып. 9. – С. 1183-1197.
6. Мещишен І.Ф. Механізм окиснювальної модифікації білків / І.Ф. Мещишен, В.П. Польовий // *Бук. мед. вісник.* – 2001. – № 2. – С. 18-25.
7. Пішак В.П. Фотоперіодизм і функціонування репродуктивної системи у людини / В.П. Пішак // *Міжнар. ендокрин. ж.* – 2013. – № 2 (50). – С. 77-80.
8. Саприн А.Н. Окислительный стресс и его роль в механизмах апоптоза и развития патологических процессов / А.Н. Саприн, Е.В. Калинина // *Успехи биол. хим.* – 1999. – Т. 39. – С. 289-326.
9. Ходоровський Г.І. Вплив фотоперіоду різної тривалості на проокисно-антиоксидантний гомеостаз у тканинах ясен статовонезрілих самок шурів / Г.І. Ходоровський, Р.Р. Дмитренко, О.В. Ясінська // *Biomed. and biosoc. Anthropology.* – 2013. – № 21. – С. 8-12.
10. Ходоровський Г.І. Роль ретинно-гіпоталамо-енфіфізарної системи в про-й антиоксидантних процесах у тканинах ясен статовозрілих самців шурів / Г.І. Ходоровський, Р.Р. Дмитренко, О.В. Ясінська // *Фізіол. ж.* – 2013. – Т. 59, № 6. – С. 58-63.
11. Dunlop R.A. Recent developments in the intracellular degradation of oxidized proteins / R.A. Dunlop, K.J. Rodgers, R.T. Dean // *Free. Radic. Biol. Med.* – 2002. – Vol. 33, № 7. – P. 894-906.
12. Güncü G. Effects of endogenous sex hormones on the periodontium – Review of literature / G. Güncü, T. Tözüm, F. Çağlayan // *Australian Dental Journal.* – 2005. – № 50 (3). – P. 138-145.
13. Pacifici R.E. Protein degradation as an index of oxidative stress / R.E. Pacifici, K.J. A. Davies // *Methods Enzymol.* – 1990. – Vol. 186. – P. 485-502.
14. Valkoa Marian. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease / Marian Valkoa, Dieter Leibfritz, Jan Moncola // *J. of Biochem & Cell Physiology.* – 2007. – Vol. 39, Issue. – P. 44-84.

ПОЛОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ПЕРЕРЫВИСТОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА СОДЕРЖАНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В ТКАНЯХ ДЕСЕН В УСЛОВИЯХ ФОТОПЕРИОДА РАЗЛИЧНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ

Р.Р. Дмитренко, Г.И. Ходоровский, В.А. Гончаренко

Резюме. В опытах на неполовозрелых самцах и самках белых крыс установили, что прерывистая 14-дневная системная гипобарической гипоксией (4000 м над уровнем моря, продолжительностью 2 часа каждый день) вызывает изменение содержания окислительно-модифицированных белков (ОМБ) в тканях десен неполовозрелых белых крыс. Результат действия гипоксии зависит от пола животных: у самцов он проявляется существенным снижением содержания ОМБ как основного, так и нейтрального характера, у самок – только тенденцией к снижению ОМБ основного характера.

Функциональное состояние шишковидной железы, изменяемое содержанием животных в условиях постоянного освещения или постоянной темноты, влияет на результат действия гипоксии на содержание ОБМ в тканях десны. Высокий уровень продукции мелатонина шишковидной железой (содержание животных в условиях темноты) усиливает понижающее действие гипоксии на уровень ОБМ, что проявляется более выражено у самцов.

Таким образом, путем сочетанного действия прерывистой гипобарической гипоксии и постоянной темноты можно предотвратить накопление окисленных белков в тканях десны неполовозрелых животных.

Ключевые слова: десна, гипоксия, фотопериод, окислительно-модифицированные белки, пол.

THE SEX RELATED EFFECTS OF INTERMITTENT HYPOBARIC HYPOXIA ON THE OXIDIZED MODIFICATION OF PROTEINS IN THE GINGIVAL TISSUES IN IMMATURE RATS UNDER CONDITIONS OF CHANGED PHOTOPERIOD

R.R. Dmytrenko, H.I. Khodorovskiy, V.A. Honcharenko

Abstract. It is shown in experiments that intermittent hypoxia (equivalent to the altitude 4000 meters, 2 hours per day for 14 days) changes the capacity of the oxidized modification of proteins (OMP) in the gingival tissues of immature albino rats. The result of hypoxic effects depends on the sex of animals: in males it causes a decrease of proteins peroxidation intensity both of basic and neutral nature; in females – only a tendency to decrease of the basic OMP.

Functional state of the pineal gland changed by experimental conditions (14 days of illumination – “physiological pinealectomy”, or 14 days of darkness – stimulation of the pineal gland) influenced the effects of hypoxia on the OMP in the gingival tissues. The darkness heightens the decreasing effects of hypoxia on the capacity of OMP in the gingival, which is more pronounced in male rats.

Our results suggest that by an application of combination of intermittent hypobaric hypoxia and the darkness it is possible to prevent the process of accumulation of OMP in the gingival tissues

Key words: gingiva, hypoxia, photoperiod, oxidized modification of proteins, sex.

Bukovinian State Medical University (Chernivsi)

Рецензент – проф. Р.С. Булик

Buk. Med. Herald. – 2014. – Vol. 18, № 1 (69). – P. 29-32

Надійшла до редакції 30.01.2014 року

© Р.Р. Дмитренко, Г.І. Ходоровський, В.А. Гончаренко, 2014

УДК 616.831.9-002.155:616-008.8-097-009

Д.А. Задирака, О.В. Рябоконт, А.В. Абрамов

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НЕЙРОГУМОРАЛЬНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ У ХВОРИХ НА СЕРОЗНІ МЕНІНГІТИ В ДИНАМІЦІ ЗАХВОРЮВАННЯ

Запорізький державний медичний університет

Резюме. У роботі показано, що у хворих на серозні менінгіти в динаміці захворювання на тлі зменшення загальноінтоксикаційної й загальнономозкової симптоматики маніфестують клінічні ознаки вегетативної дисфункції, що підтверджуються змінами варіабельності

серцевого ритму й гормональними змінами та зберігаються в більшості хворих і в періоді реконвалесценції.

Ключові слова: серозний менінгіт, варіабельність серцевого ритму, гормони.

Вступ. Інфекційні хвороби з ураженням нервової системи – одна з найактуальніших проблем сучасної клінічної медицини [1, 2]. Згідно з даними Європейської Федерації Неврологічних Товариств (EFNS), серозний менінгіт (СМ) реєструється з частотою 2-5 на 100 тис. людей у країнах Європи і може бути в десятки разів вищим у менш розвинутих країнах. СМ входить до першої десятки причин смерті, пов'язаних з інфекційними хворобами у світі, а 30-50 % осіб, які одужали, мають постійні неврологічні ускладнення, серед яких когнітивна дисфункція, поведінкові розлади, судоми та рухові розлади, церебрастенічний, астеноневротичний, лікворно-гіпертензійний і діенцефальний синдроми [13, 16, 20].

Сучасні уявлення про типові патологічні процеси та їх реалізацію в нозологічну форму свідчать, що в основі розвитку захворювання лежить деформація системної реакції організму на дію етіологічних чинників. При цьому ключовою складовою генезу патологічного процесу виступає зміна або порушення спроможності компенсаторно-приспосувальних механізмів [16, 17]. У першу чергу, це стосується нейроендокринної системи, яка запускає реакції адаптації та/або компенсації до будь-якого зовнішнього впливу, ареакивність центральних регуляторних систем може змінюватися не лише кількісно, але і якісно. При цьому гіпоергічна реакція системи може

© Д.А. Задирака, О.В. Рябоконт, А.В. Абрамов, 2014