

Влияние эстрогенной недостаточности и ее сочетания с хроническим стрессом на состояние пародонта старых крыс

Н. Н. Савельева*¹, О. В. Гончаренко², С. А. Шнайдер³, Е. К. Ткаченко³

¹Харьковский национальный медицинский университет, Украина, ²Одесский национальный медицинский университет, Украина,

³ГУ «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии НАМН Украины», г. Одесса

Ключевые слова:

эстрогены, овариэктомия, стресс, перекисное окисление липидов, гистоморфометрия, пародонтопатии, болезни, крысы.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 1(112). – С. 90–94

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.1.155832

*E-mail: saveleva_nn@ukr.net

Ключові слова:

естрогени, овариєктомія, стрес, перекисне окислення ліпідів, гістоморфометрія, пародонтопатії, шугри.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 1(112). – С. 90–94

Key words:

estrogens, ovariectomy, stress, lipid peroxidation, histomorphometry, periodontal diseases, rats.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (1), 90–94

Цель работы – изучение влияния овариэктомии и ее сочетания со стрессом (перелом бедренной кости) на состояние пародонта старых крыс.

Материалы и методы. Опыт проведен на 24 белых крысах-самках стадного разведения. I группа – интактная. В 2-месячном возрасте крысам II группы была произведена овариэктомия (ОЭ). Перелом бедренной кости одной из задних конечностей произведен крысам III группы за 1 месяц до забоя. На момент забоя крысы были в возрасте 15 месяцев.

Результаты. В условиях экспериментальной овариэктомии в печени, слюнных железах и кости альвеолярного отростка повышался уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ); существенно увеличивалось обнажение корней моляров. Стресс (перелом бедра) усугублял усиление перекисных процессов в слюнных железах и печени крыс. При сочетании овариэктомии и стресса в печени снижался уровень нуклеиновых и высших полиеновых жирных кислот в ее липидах. Уровень ПОЛ в кости альвеолярного отростка существенно не изменялся. При гистоморфометрическом исследовании пародонта крыс отмечено снижение верхнего края эпителиального прикрепления.

Выводы. Наиболее значительное патогенное воздействие для пародонта – экспериментальная эстрогенная недостаточность у старых крыс. Полученные данные демонстрируют, что одним из механизмов развития пародонтита является недостаточность женских половых гормонов.

Вплив естрогенної недостатності та її поєднання з хронічним стресом на стан пародонта старих щурів

Н. М. Савельєва, О. В. Гончаренко, С. А. Шнайдер, Є. К. Ткаченко

Мета роботи – вивчення впливу овариєктомії та її поєднання зі стресом (перелом стегнової кістки) на стан пародонта старих щурів.

Матеріали та методи. Дослід проведено на 24 білих щурах-самках стадного розведення. I група – інтактна. У 2-місячних щурів II групи виконали овариєктомію (ОЕ). Перелом стегнової кістки однієї із задніх кінцівок здійснили щурам III групи за 1 місяць до забиття. На момент забиття щури були віком 15 місяців.

Результати. В умовах експериментальної овариєктомії в печінці, слинних залозах і кістці альвеолярного відростка підвищувався рівень перекисного окислення ліпідів (ПОЛ); істотно збільшувалось оголення коренів молярів. Стрес (перелом стегна) збільшував посилення перекисних процесів у слинних залозах і печінці щурів. При поєднанні овариєктомії та стресу в печінці знижувався рівень нуклеїнових і вищих полієнових жирних кислот в її ліпідах. Рівень ПОЛ у кістці альвеолярного відростка суттєво не змінювався. Під час гістоморфометричного дослідження пародонта щурів виявили зниження верхнього краю епітеліального прикріплення.

Висновки. Найбільш значущим патогенним впливом для пародонта була експериментальна естрогенна недостатність у старих щурів. Результати показують, що одним із механізмів розвитку пародонтиту є недостатність жіночих статевих гормонів.

The effect of estrogen deficiency and its combination with chronic stress on the condition of periodontal in old rats

N. M. Savielieva, O. V. Honcharenko, S. A. Shnaider, Ye. K. Tkachenko

The aim of the study was to investigate the effect of ovariectomy and its combination with stress (femoral fracture) on the periodontal condition in old rats.

Materials and methods. A total of 24 white female rats were used in the experiment. The first group consisted of intact rats. Rats of the second group were subjected to an ovariectomy (OE) at the age of 2 months. Rats of the third group underwent a fracture of the one femur 1 month before they were euthanized. The animals were sacrificed at 15 months of age.

Results. The level of LPO was increased in the liver, salivary glands and alveolar bone process after experimental ovariectomy; the recession defects on molars were significantly increased. Stress (femoral fracture) aggravated the intensification of peroxidation processes in the salivary glands and liver of rats. The levels of nucleic and higher polyene fatty acids in the liver lipids were decreased in the combination of ovariectomy and stress. The level of LPO in the alveolar bone process was not changed significantly. Histomorphometric study of periodontium in rats revealed a decrease in the upper margin of epithelial attachment.

Conclusions. Experimental estrogen deficiency caused the most significant pathogenic effect on the periodontium in old rats. The obtained data demonstrate that female sex hormone deficiency is one of the mechanisms in periodontitis pathogenesis.

Прогрессирование пародонтита в постклимактерическом периоде в значительной степени обусловлено недостаточностью эстрогенных гормонов, возрастным падением активности функционирования физиологической антиоксидантной системы, а также последующими нарушениями метаболизма костной ткани.

Почти у 60 % женщин в этом периоде отмечают нарушения со стороны пародонта, а именно его кровоснабжения и метаболизма костной ткани [1].

Имеется достаточно много данных о ключевой роли эстрогенов в поддержании костной массы и структуры кости. Постменопаузальный остеопороз – наиболее распространенное метаболическое заболевание костной ткани. Механизм развития остеопороза у женщин с гипозэстрогенией связан с активацией выработки костно-резорбирующих факторов и снижением продукции стимуляторов костеобразования вследствие дефицита эстрогенов [2]. К проявлениям системного остеопороза относятся и усиление атрофических процессов в челюстях. С обнаружением рецепторов эстрогенов и андрогенов в остеобластах стало понятно, что через эти клетки стероиды оказывают опосредованное влияние на костное ремоделирование [3].

Дефицит эстрогенов у женщин, возникающий в результате хирургической менопаузы, также приводит к ухудшению состояния тканей пародонта: увеличению значения пародонтальных индексов, усилению кровоточивости десен и степени деструкции костной ткани [4].

Не менее важный фактор риска пародонтита – стресс. Многие исследования свидетельствуют, что стрессорные воздействия способствуют возникновению патологических изменений в тканях пародонта. На различных моделях стресса установлено патогенное воздействие на пародонт за счет снижения общей резистентности организма, проявляющееся активацией перекисных процессов и протеолиза, деструкцией клеточных мембран, нарушением гемоциркуляции мягких тканей и метаболизма костной ткани. При морфометрическом исследовании тканей пародонта после хронического стресса установлены деструктивные явления в десне и костной ткани [5].

Это предопределило изучение влияния экспериментальной недостаточности эстрогенов и прогестиннов на состояние тканей пародонта и ее сочетания с хроническим стрессом.

Цель работы

Изучение влияния овариэктомии и ее сочетания с травматическим стрессом перелома бедренной кости на состояние пародонта старых животных.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены на 24 белых крысах-самках в возрасте 1,5 месяца со средней массой $79,0 \pm 5,8$ г стадного разведения. I группу составили интактные крысы ($n = 8$). В 2-месячном возрасте крысам II группы ($n = 8$) произведена овариэктомия (ОЭ). Перелом бедренной кости одной из задних конечностей произведен 8 крысам III группы за 1 месяц до забоя. На момент

забоя животные были в возрасте 15 месяцев, их масса составляла $313,0 \pm 9,5$ г.

После окончания эксперимента у крыс выделяли слизистую оболочку полости рта (СОПР), подчелюстные слюнные железы (ПЧЖ). Гистоморфометрические измерения состояния пародонта крыс проводили согласно рекомендациям М. Киндловой с соавт. [6]. Для этого на микропрепаратах пародонта по дистальной поверхности нижнего правого второго моляра (в мм) у крыс 15-месячного возраста определяли 3 основных размера, точкой отсчета для которых служил уровень цементно-эмалевой границы:

1) до верхнего края десневого сосочка, что отражает степень гипертрофии либо ретракции десны;

2) до верхнего края эпителиального приращения, что определяет глубину зубо-десневой бороздки;

3) до гребня межальвеолярной перегородки, что определяет интенсивность деструкции межальвеолярной перегородки.

Объекты биохимических исследований: печень, СОПР, ПЧЖ, кость альвеолярного отростка. Уровень ПОЛ оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) [7] и диеновых конъюгатов (ДК) [8]. Оценивали активность антиоксидантных ферментов обмена глутатиона: глутатион-редуктазы (ГР) [9] и глутатион-пероксидазы (ГПО) [10]. В печени определяли содержание ДНК и РНК [11]. Содержание полиеновых жирных кислот определяли в липидах печени методом газожидкостной хроматографии [12].

Результаты исследований заносили в электронную таблицу Excel 10.0 и обрабатывали при помощи стандартного пакета статистических программ Statistica 8.0. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – стандартная ошибка среднего значения. Достоверность полученных результатов оценивали по t -критерию достоверности различий по Стьюденту. Различия считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$, а тенденции достоверности при $0,05 < p < 0,1$.

Результаты

Влияние овариэктомии, а также сочетания овариэктомии с хроническим стрессом (переломом бедра) крыс по результатам гистоморфометрии пародонта представлены в *таблице 1*.

Исследования показали, что овариэктомия вызвала значительное снижение показателя величины гребня кости альвеолярного отростка крыс на 27 % по сравнению с интактной группой, что свидетельствует об усилении интенсивности деструкции межальвеолярной перегородки. Другие показатели гистоморфометрии пародонта в результате овариэктомии не имели статистически значимых отличий по сравнению с данными интактных групп (*табл. 1*).

Биохимические исследования показали, что низкий уровень гормонов приводил к усилению продукции первичных и вторичных продуктов ПОЛ в печени и тканях ротовой полости крыс (*табл. 2 и 3*). Так, в печени содержание диеновых конъюгатов при овариэктомии увеличивалось в 2,7 раза ($p = 0,008$; *табл. 2*), уровень МДА в подчелюстных слюнных железах – на 33 % ($p = 0,03$), в слизистой оболочке полости рта – на 56 %

Таблица 1. Показатели гистоморфометрии пародонта крыс (M ± m)

Гистоморфометрические показатели по отношению к цементно-эмалевой границе (мм)	Группы животных		
	Интakтная	Овариэктомия	ОЭ + перелом
Высота десневого сосочка	-0,155 ± 0,057	-0,195 ± 0,070	-0,180 ± 0,102
Верхний край эпителиального прикрепления	-0,205 ± 0,052	-0,150 ± 0,040	-0,360 ± 0,048 p = 0,05 p ₁ = 0,007
Гребень альвеолярной кости	-0,570 ± 0,052	-0,725 ± 0,031 p = 0,03	-0,695 ± 0,275

p: показатель достоверности рассчитан относительно интактной группы; p₁: относительно группы оvariэктомии.

Таблица 2. Биохимические показатели в печени крыс (M ± m)

Показатели, единицы измерения	Группы животных		
	интактная	овариэктомия	ОЭ + перелом
Содержание ДК (ед.экст./г)	0,37 ± 0,13	1,011 ± 0,095 p = 0,008	2,00 ± 0,01 p < 0,001 p ₁ < 0,001
Активность ГР (нмоль/с·г)	0,42 ± 0,13	0,48 ± 0,08	0,470 ± 0,099
ГПО (нмоль/с·г)	8,10 ± 0,92	12,60 ± 1,00 p = 0,008	12,50 ± 2,20
Содержание ДНК (мкг/г ткани)	151,00 ± 9,90	128,0 ± 19,1	27,1 ± 16,0 p < 0,001 p ₁ = 0,002
РНК (мкг/г ткани)	151,00 ± 4,30	101,00 ± 9,80 p = 0,001	52,10 ± 8,70 p < 0,001 p ₁ = 0,002

p: показатель достоверности рассчитан относительно интактной группы; p₁: относительно группы оvariэктомии.

Таблица 3. Содержание МДА и активность антиоксидантных ферментов в тканях ротовой полости крыс (M ± m)

Группы животных	МДА (мкмоль/г)	Глутатион-редуктаза (нмоль/с·г)	Глутатион-пероксидаза (нмоль/с·г)
СОПР			
Интakтная	0,041 ± 0,001	3,40 ± 0,098	12,90 ± 0,38
Овариэктомия	0,064 ± 0,014 p = 0,13	3,40 ± 0,083	16,40 ± 0,85 p = 0,002
ОЭ+перелом	0,063 ± 0,0056 p = 0,001	3,37 ± 0,096	17,50 ± 2,06 p = 0,04
Подчелюстные железы			
Интakтные	0,054 ± 0,005	0,61 ± 0,097	16,40 ± 0,89
Овариэктомия	0,072 ± 0,005 p = 0,03	0,89 ± 0,049 p = 0,02	16,60 ± 1,29
ОЭ+перелом	0,0980 ± 0,0038 p < 0,001 p ₁ = 0,001	0,67 ± 0,054	23,20 ± 1,03 p < 0,001 p ₁ = 0,001

p: показатель достоверности рассчитан относительно интактной группы; p₁: относительно группы оvariэктомии.

Таблица 4. Жирнокислотный спектр липидов печени (%) крыс (M ± m)

Группы животных	Содержание жирных кислот						
	пальмитиновая (16:0)	стеариновая (18:0)	олеиновая (18:2)	линолевая (18:3)	эйкозатетраеновая (20:4)	эйкозапентаеновая (20:5)	докозагексаеновая (22:6)
Интakтная	25,00 ± 0,90	35,40 ± 1,40	20,00 ± 0,8	0,41 ± 0,27	11,7 ± 1,0	1,86 ± 0,33	6,90 ± 0,65
Овариэктомия (ОЭ)	22,60 ± 1,90	28,60 ± 1,80 p = 0,016	19,20 ± 1,30	1,48 ± 0,38 p = 0,04	6,69 ± 1,01 p = 0,003	1,34 ± 0,25	8,21 ± 2,90
ОЭ+перелом	22,60 ± 1,80	33,10 ± 1,10	22,70 ± 0,90	0,82 ± 0,40	7,81 ± 0,62 p = 0,001	1,21 ± 0,18 p = 0,10	4,61 ± 0,25 p = 0,011

p: показатель достоверности рассчитан по сравнению с интактной группой.

(тенденция; p = 0,13; табл. 3). В кости альвеолярного отростка усиление кинетики накопления МДА при оvariэктомии за 1 час инкубации составило 73 %: 197,0 ± 42,5 % против 114,0 ± 2,7 % в интактной группе (тенденция; p = 0,08); за 2 часа инкубации – 113%: 258,0 ± 71,6 % против 121,0 ± 2,4 % (p = 0,08). Увеличение активности глутатион-пероксидазы в печени крыс в 1,6 раза (p = 0,008) и в слизистой оболочке полости рта в 1,3 раза (p = 0,002), по-видимому, носило индуктивный характер в ответ на избыточную продукцию гидроперекисей липидов в данных объектах исследования (табл. 2 и 3).

Содержание РНК в печени крыс при оvariэктомии снижалось в 1,5 раза (p = 0,001), а уровень ДНК существенно не отличался от данных интактной группы (табл. 2).

По-видимому, вследствие усиления ПОЛ в печени изменился жирнокислотный состав ее липидов. Так, в результате оvariэктомии отмечено достоверное снижение в печени содержания стеариновой (18:0) кислоты (p = 0,016). В большей степени (на 57 %; p = 0,003) при оvariэктомии в печени снизилось содержание арахидоновой (эйкозатетраеновой кислоты; 20:4), а линолевая кислота (18:3) менее подверглась окислительным процессам (табл. 4).

При изучении гистоморфометрии пародонта оvariэктомированных крыс в сочетании с травматическим стрессом (перелом бедренной кости) установлено, что верхний край эпителиального прикрепления находился в 2,4 раза ниже (p₁ = 0,007) такового у оvariэктомированных крыс. Другие показатели гистоморфометрии пародонта существенно не отличались от показателей группы оvariэктомии (табл. 1).

Проведение операции перелома бедра у оvariэктомированных крыс приводило к более значительному усилению процессов ПОЛ в печени, чем при оvariэктомии – содержание ДК увеличивалось в 2 раза (p₁ < 0,001; табл. 2).

Операция перелома кости в большей степени, чем оvariэктомия, обуславливала активацию ПОЛ в подчелюстных слюнных железах – содержание МДА увеличивалось на 36 % (p₁ = 0,001). В данном объекте исследования активность глутатион-редуктазы снижалась на 25 % (p₁ = 0,011), а глутатион-пероксидазы – индуктивно увеличивалась (p₁ = 0,001; табл. 3).

В слизистой оболочке полости рта уровень МДА соответствовал таковому при оvariэктомии (табл. 3). Овариэктомия в сочетании со стрессом достоверно не отразилась на показателях ПОЛ в костной ткани пародонта. Так, кинетика накопления МДА практически соответствовала таковой в интактных группах: 117,0 ± 4,7 %

против $114,0 \pm 2,7$ % (1 час инкубации); $129,0 \pm 4,3$ % против $121,0 \pm 2,4$ % (2 часа инкубации).

Значительным оказалось снижение содержания РНК и ДНК в печени овариэктомизированных крыс с переломом конечности: в 1,9 раза ($p_1 = 0,002$) и в 4,7 раза ($p_1 = 0,002$) соответственно (табл. 2).

При проведении овариэктомии в сочетании со стрессом, как и у овариэктомизированных крыс, снижалось содержание эйкозатетраеновой кислоты в липидах печени крыс по сравнению с интактной группой (в 1,5 раза; $p = 0,001$; табл. 4). Кроме того, более значительно, чем при овариэктомии, в липидах печени снижалось содержание эйкозапентаеновой (20:5) – на 35 % (тенденция; $p = 0,10$), на 33 % ($p = 0,011$) докозагексаеновой (22:6) кислот по сравнению с данными интактных групп (табл. 4).

Обсуждение

С помощью клинко-рентгенологических методов группа авторов установила патологию пародонта у женщин с нарушениями овариальной функции. Эти изменения проявлялись в снижении высоты вершины межзубных перегородок, появлении очагов остеопороза в теле нижней челюсти, снижении плотности альвеолярного отростка [13].

В наших исследованиях по данным гистоморфометрии пародонта эстрогенная недостаточность у экспериментальных животных вызвала значительное снижение величины гребня кости альвеолярного отростка. При овариэктомии повышался уровень процессов ПОЛ в печени и слюнных железах, изменялись активность ферментов антиоксидантной защиты, обмена жирных и нуклеиновых кислот. Усиление перекисных процессов в печени сопровождалось снижением содержания РНК и уровня арахидоновой кислоты в ее липидах.

Роль стресса в генезе патологии пародонта, несмотря на значительное количество информации, посвященной этой проблеме, изучена недостаточно [14]. Большинство клинических наблюдений свидетельствуют, что негативные события в жизни человека, приводящие к повышенному уровню психологической напряженности, тревожности, концентрации кортизола в крови, являются факторами риска развития стоматологических заболеваний и способствуют их прогрессированию. Повышенный уровень кортизола в крови пациентов способствует повреждению десен и челюстных костей, характерных для болезней пародонта [15]. Под воздействием хронического стресса в пародонтальной связке авторы установили нарушения микроциркуляции с возникновением застоя в венозном русле, локальными кровоизлияниями, возникла деформация пучков коллагеновых волокон и изменения их направления [16].

Изменения гистоморфометрических показателей пародонта в наших экспериментальных условиях выразились в существенном снижении верхнего края эпителиального прикрепления у овариэктомизированных крыс. Хронический стресс усугублял вызванное овариэктомией усиление перекисных процессов в слюнных железах и печени крыс. При сочетании овариэктомии

со стрессом уровень процессов ПОЛ в кости альвеолярного отростка достоверно не изменялся. При сочетании овариэктомии и хронического стресса в печени животных значительно снижался уровень нуклеиновых и высших полиеновых жирных кислот в результате их окислительной модификации.

Выводы

Наиболее значительное патогенное воздействие для пародонта – экспериментальная эстрогенная недостаточность у старых крыс. Полученные данные демонстрируют, что важным механизмом развития пародонтита является недостаточность женских половых гормонов.

Перспективы дальнейших исследований состоят в проведении экспериментальных исследований по установлению репаративных способностей тканей пародонта у старых крыс с эстрогенной недостаточностью при введении в их рацион препаратов с адаптогенными свойствами.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Сведения об авторах:

Савельева Н. Н., д-р мед. наук, доцент каф. стоматологии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Гончаренко О. В., канд. мед. наук, доцент каф. терапевтической стоматологии, Одесский национальный медицинский университет, Украина.

Шнайдер С. А., д-р мед. наук, профессор, директор ГУ «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии НАМН Украины», г. Одесса.

Ткаченко Е. К., канд. биол. наук, старший научный сотрудник сектора экспериментальной патологии, ГУ «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии НАМН Украины», г. Одесса.

Відомості про авторів:

Савельєва Н. М., д-р мед. наук, доцент каф. стоматології, Харківський національний медичний університет, Україна.

Гончаренко О. В., канд. мед. наук, доцент каф. терапевтичної стоматології, Одеський національний медичний університет, Україна.

Шнайдер С. А., д-р мед. наук, професор, директор ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицьової хірургії НАМН України», м. Одеса.

Ткаченко Є. К., канд. біол. наук, старший науковий співробітник сектора експериментальної патології ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицьової хірургії НАМН України», м. Одеса.

Information about authors:

Savileva N. M., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Department of Dentistry, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Honcharenko O. V., MD, PhD, Associate Professor, Department of Therapeutic Dentistry, Odesa National Medical University, Ukraine.

Schnaider S. A., MD, PhD, DSc, Professor, Director of SI "Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Odesa.

Tkachenko Ye. K., PhD, Senior Researcher, Sector of Experimental Pathology, SI "Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Odesa.

Надійшла до редакції / Received: 19.02.2018

Після доопрацювання / Revised: 19.04.2018

Прийнято до друку / Accepted: 10.05.2018

Список литературы

- [1] Baclum V. Periodontal disease epidemiology—learned and unlearned? // *V. Baclum, R. Lopez // Periodontal 2000*. – 2013. – Vol. 62. – Issue 1. – P. 37–58.
- [2] Сметник В.П. Эстрогены и костная ткань / В.П. Сметник, А.А. Сметник // *Фармакеки*. – 2013. – №12. – С. 17–21.
- [3] Suri V. Menopause and oral health / V. Suri // *J. Midlife Health*. – 2014. – Vol. 5. – Issue 3. – P. 115–120.
- [4] Щербakov И.В. Изменения состояния тканей пародонта у женщин при выраженном дефиците эстрогенов / И.В. Щербakov, О.В. Орешака, Е.А. Деметьева // *Институт стоматологии*. – 2015. – №1(66). – С. 70–71.
- [5] Корневская Н.А. Воздействие стресса на состояние тканей полости рта / Н.А. Корневская // *Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины*: мат-лы 67-й открытой научно-практической конф. молодых ученых и студентов с международ. участием. – Волгоград: Изд-во ВолГМУ. – 2009. – 364 с.
- [6] Age-dependent changes in the rat periodontium / M. Kindlova, Z. Maricova, Z. Broukal // *J. of Periodont. Res.* – 1981. – Issue 16. – P. 497–503.
- [7] Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. – М.: Наука, 1972. – 230 с.
- [8] Стальная И. Метод определения диеновых конъюгаций ненасыщенных высших жирных кислот / И. Стальная, Т. Гаришвили // *Современные методы биохимии* / под ред. В.Н. Ореховича. – М., 1977. – С. 63–64.
- [9] Путилина Е.Ф. Определение активности глутатион-редуктазы / Е.Ф. Путилина // *Методы биохимических исследований*. – М.: ин. лит., 1982. – С. 181–183.
- [10] Авторское свидетельство 922637 СССР. МКИ 01 33/48. Способ определения активности глутатион-пероксидазы в биологических тканях / В. Пахомова, Н. Козьянина, Г. Крюкова. Опубл. 25.04.82 // *Бюллетень*. – 1982. – №15. – 2 с.
- [11] Трудолюбова М.Г. Количественное определение РНК и ДНК в субклеточных фракциях клеток животных / М.Г. Трудолюбова // *Современные методы в биохимии*. – М.: Медицина, 1977. – С. 313–316.
- [12] Матусис Л.И. Исследование жирно кислотного состава липидов кожи методом газо-жидкостной хроматографии / Л.И. Матусис // *Лабораторное дело*. – 1988. – №6. – С. 26–30.
- [13] Максимовский Ю.М. Состояние пародонта при генерализованном остеопорозе у женщин с недостаточной функцией яичников / Ю.М. Максимовский, А.И. Мотиль, В.Е.Новиков // *Стоматология*. – 1991. – №1. – С. 24–26.
- [14] Тарасенко Л.М. Патогенез повреждения пародонта при стрессе: автореф. дис. на соискание ученой степени д.мед.н.: 14.00.16 / Л.М. Тарасенко; Полтавский мед. стомат. институт. – М., 1985. – 41 с.
- [15] Корневская Н.А. Влияние стресса на состояние тканей челюстно-лицевой области / Н.А. Корневская, И.В. Городецкая // *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. – 2009. – Т. 8. – №3. – С. 1–20.
- [16] Antonova J.N. Changes in the masticatory muscles periodontal tissues, and the pharyngeal ring in Wistar rats in chronic psychophysical stress / J.N. Antonova // *Neurosci. Behav. Physiol.* – 2008. – Vol. 38. – №9. – P. 891–896.
- [8] Stal'naya, I. D., & Garishvili, T. (1977) Metod opredeleniya dienovykh konyugacij nenasyschennykh vysshikh zhirnykh kislot [The method for determining diene conjugations of unsaturated higher fatty acids]. *Sovremennye metody biokhimi*, (Orekhovich, V. N., ed), (P. 63–64). Moscow. [in Russian].
- [9] Putilina, E. F. (1982) Opredelenie aktivnosti glutation-reduktazy [Determination of glutathione reductase activity]. *Metody biokhimicheskikh issledovanij*. Moscow. [in Russian].
- [10] Pahomova, V., Kozlyanina, N., & Kryukova, G. (1982) Avtorskoe svidetel'stvo 922637 SSSR. MКИ 01 33/48. Sposob opredeleniya aktivnosti glutation-peroksidazy v biologicheskikh tkanyakh [The method for determining the activity of glutathione peroxidase in biological tissues]. *Biulleten*, 15. [in Russian].
- [11] Trudolyubova, M. G. (1977) Kolichestvennoe opredelenie RNK i DNK v subkletochnykh frakciyakh kletok zhivotnykh [Quantification of RNK and DNK in subcellular fractions of animal cells]. *Sovremennye metody v biokhimii*. Moscow: Medicina. [in Russian].
- [12] Matusis, L. I. (1988) Issledovanie zhirno kislotnogo sostava lipidov kozhi metodom gazo-zhidkostnoj khromatografii [Study of fatty acid composition of skin lipids by gas-liquid chromatography]. *Laboratornoe delo*, 6, 26–30. [in Russian].
- [13] Maksimovskij, Yu. M., Motil' A. I., & Novikov, V. E. (1991) Sostoyanie parodonta pri generalizovannom osteoporoze u zhenshchin s nedostatochnoj funkciej yaichnikov [Condition of periodontal disease in generalized osteoporosis in women with insufficient ovarian function]. *Stomatologiya*, 1, 24–26. [in Russian].
- [14] Tarasenko, L. M. (1985) *Patogenez povrezhdeniya parodonta pri stresse*. (Avtoref. dis... dokt. med. nauk) [Pathogenesis of periodontal damage during stress. Dr. med. sci. diss.]. Moscow. [in Russian].
- [15] Koronevskaya, N. A., & Gorodeckaya, I. V. (2009) Vliyaniye stressa na sostoyaniye tkanej chelyustno-licevoj oblasti [The influence of stress on the state of the tissues of the maxillofacial region]. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*, 8(3), 1–20. [in Russian].
- [16] Antonova, J. N. (2008) Changes in the masticatory muscles periodontal tissues, and the pharyngeal ring in Wistar rats in chronic psychophysical stress. *Neurosci. Behav. Physiol.*, 38(2), 891–896. doi: 10.1007/s11055-008-9068-4.

References

- [1] Baclum, V., & Lopez, R. (2013) Periodontal disease epidemiology—learned and unlearned? *Periodontal*, 62(1), 37–58. doi: 10.1111/j.1600-0757.2012.00449.x.
- [2] Smetnik, V. P., & Smetnik, A. A. (2013) E'strogeny i kostnaya tkan' [Estrogens and bone tissue]. *Farmateki*, 12, 17–21. [in Russian].
- [3] Suri, V. (2014) Menopause and oral health. *J. Midlife Health*, 5(3), 115–120. doi: 10.4103/0976-7800.141187.
- [4] Sherbakov, I. V., Oreshaka, O. V., & Demytyeva, E. A. (2015) Izmeneniya sostoyaniya tkanej parodonta u zhenshchin pri vyrazhennom deficite e'strogenov [The state alteration of women's periodontal tissues in the presence of the frank estrogen deficiency]. *Institut stomatologii*, 1(66), 70–71. [in Russian].
- [5] Korenevskaya, N. A. (2009) Vozdejstvie stressa na sostoyaniye tkanej polosti rta. Aktual'nye problemy ehksperimental'noj i klinicheskoy mediciny [The impact of stress on the condition of the tissues of the mouth. Actual problems of experimental and clinical medicine]. *Aktual'nye problemy e'ksperimental'noj i klinicheskoy mediciny* Proceedings of the 67th Scientific and Practical Conference. Volgograd: Izd-vo VolGMU. [in Russian].
- [6] Kindlova M., Mrklas L., Maricova Z., Broukal Z. (1981) Age-dependent changes in the rat periodontium, *J. of Periodont. res.* 16, 497-503.
- [7] Vladimirov, Yu. A., & Archakov, A. I. (1972) *Perekisnoe okislenie lipidov v biologicheskikh membranakh* [Peroxide oxidation of lipids in biological membranes]. Moscow: Nauka. [in Russian].