

На правах рукописи

Диденко Николай Николаевич

**РОЛЬ СЕКРЕТОРНОЙ И ГУМОРАЛЬНОЙ
АКТИВНОСТИ БОЛЬШИХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ
В ПАТОГЕНЕЗЕ ПАРОДОНТИТА У КРЫС**

3.3.3. Патологическая физиология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Краснодар – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель доктор медицинских наук, профессор
Сирак Алла Григорьевна.

Официальные оппоненты:

Гребнев Дмитрий Юрьевич, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патологической физиологии, заведующий кафедрой;

Соловьева Наталия Владиславовна, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патологической физиологии, заведующая кафедрой.

Ведущая организация:

федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского».

Защита состоится 06 октября 2026 года в 12.00 час. на заседании диссертационного совета 21.2.014.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России) (350063, Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4, тел. (861)2625018).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и официальном сайте ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (<http://www.ksma.ru>).

Автореферат разослан «___» _____ 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 21.2.014.02
доктор медицинских наук,
профессор



Лапина Наталья Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Воспалительные заболевания пародонта, отличающиеся высокой распространенностью, приобретают не только медицинское, но и общественное значение, поскольку влияют на здоровье населения и связаны с гомеостазом организма в целом [Новицкая И. К., Терешина Т. П., 2014; Степаненко Р. С., Афанасьев В. В., Полякова М. А., 2010; Ohshima H., Mishima K., 2023]. Рост заболеваемости усугубляется низкой эффективностью традиционных методов лечения и диагностики, что затрудняет достижение длительной ремиссии [Лобейко В. В., Иорданишвили А. К., Черныш В. Ф., 2017; Souza A., Carraro Detanico B., Fernandes Medeiros L. et al., 2022]. В этиологии и патогенезе пародонтита ключевую роль играют факторы, снижающие иммунитет и способствующие развитию вторичной иммунной недостаточности [Сультимова Т. Б., Козлова М. В., Гапонов А. М. и др., 2021]. Современные концепции подчеркивают значение иммунного статуса индивидуума и устойчивости тканей пародонта к бактериальной инвазии [Fernandez-Gutierrez M. M., Imangaliyev S., Prodan A. et al., 2020]. Эндокринная система, входящая в нейроэндокринную регуляцию, оказывает первичное влияние на иммунный ответ [Iwasawa K., Suda W., Tsunoda T. et al., 2018; Elliott K. H., Millington G., Brugmann S. A., 2018; Verstappen G. M., Pringle S., Bootsma H. et al., 2021].

Одним из наиболее значимых факторов прогрессирования воспаления в пародонте является снижение функциональной активности слюнных желез, приводящее к нарушению свойств слюны как важного компонента гомеостаза полости рта [Liukkonen J., Gürsoy U. K., Könönen E. et al., 2018]. Гипосаливация (ксеростомия) возникает по разным причинам, включая радиоактивное излучение [Маланчук В. А., Копчак А. В., Коваленко В. А., 2013], прием лекарств [Базык-Новикова О. М., 2017], онкологию [Маланчук В. А., Копчак А. В., Коваленко В. А., 2013], химические ожоги [Салюкова Д. В., Мустафина Л. Р., Логвинов С. В. и др., 2017], алкогольную интоксикацию [Яковлева Л. М., Соркина О. А., 2016], ожирение [Афанасьев В. В., 2017], а также сахарный диабет и психоэмоциональное напряжение [Орехов С. Н., Матвеев С. В., Каракян А. Э. и др., 2017; Geyer J. T., Deshpande V., 2021; Griffith C. C., Schmitt A. C., Little J. L. et al., 2017].

Гипосаливация существенно изменяет стоматологический статус пациентов, способствуя развитию кариеса дентина, воспалений пародонта и слизистой оболочки, а также системным нарушениям, ухудшающим качество жизни [Тимофеев А. А., Беридзе Б., 2014; Sirak S. V., Shchetinin E. V., 2015].

Степень разработанности темы исследования. Взаимосвязь стоматологических патологий с общесоматическими заболеваниями хорошо изучена [Денисов А. Б., 2017; Денисов А. Б., 1995; 44. Новицкая, И. К. 2014; Xiao N., Lin Y., Cao H. et al., 2023]. Данные литературы подтверждают высокую частоту кариозных поражений при гипосаливации [Доклаева М. Н., Козлова М. В., Мкртумян А. М., 2012; Nagata, S., 2018] и снижение неспецифической резистентности при остром и генерализованном пародонтите [Шаяхметов Д. Б., 2016]. Однако имеющиеся научные сведения недостаточны для понимания патогенетических механизмов пародонтита, особенно в условиях гипосаливации [Гончарова А. И., Окулич В. К., 2018; Ешиев А. М., Жолдошов С. Т., Мамажакып уулу Ж. и др., 2017]. Исследования патогенеза пародонтита при дисфункции слюнных желез крайне ограничены [Иванова В. В., Мильто И. В., Суходоло И. В. и др., 2017; Невский, М. С., 2012; Uchida H., Nakamura T. J., Takasu N. N. et al., 2018].

Рекомендуется нормализация слюноотделения для профилактики стоматологических заболеваний [Egawa M., Haze S., Gozu Y. et al., 2018], но механизмы нарушений саливации требуют дальнейшего изучения для эффективного влияния на гомеостаз полости рта [Griffith C. C., Schmitt A. C., Little J. L. et al., 2017]. Вопросы этиопатогенетической терапии пародонтита на фоне дисфункции слюнных желез освещены недостаточно.

Все вышеперечисленное обуславливает актуальность исследования метаболических и иммунологических нарушений для поиска эффективных подходов к лечению пародонтита

при снижении секреторной активности слюнных желез, что и послужило основанием для выполнения настоящего исследования.

Цель исследования – изучить патогенетические механизмы развития пародонтита при снижении секреторной и гуморальной активности больших слюнных желез, включая роль иммунологических и метаболических нарушений, с разработкой экспериментальной модели на крысах для оценки эффективности диагностических и терапевтических подходов.

Задачи исследования:

1. Разработать экспериментальную модель ксеростомии и изучить морфологические изменения в больших слюнных железах крыс при гипосаливации.

2. Разработать экспериментальную модель пародонтита и провести комплексное гистохимическое исследование белков и полисахаридов больших слюнных желез на фоне воспаления тканей пародонта.

3. Определить показатели перекисного окисления липидов, ферментных и неферментных компонентов антиоксидантной системы у животных с экспериментальным пародонтитом на фоне ксеростомии.

4. Исследовать клеточное и гуморальное звенья иммунной системы, а также особенности цитокинового профиля у животных с экспериментальным пародонтитом на фоне ксеростомии.

5. Оценить взаимосвязь между морфологическими изменениями в слюнных железах, показателями окислительного стресса и иммунным статусом у животных с сочетанной экспериментальной патологией (пародонтит на фоне ксеростомии) для выявления ключевых системных эффектов комбинированного воздействия.

Научная новизна. На основании проведенного исследования получены новые научные данные и дополнены существующие сведения о роли нарушений секреторной и гуморальной активности слюнных желез в этиологии, патогенезе и прогрессировании воспалительных заболеваний пародонта.

- в части разработки и апробации модели острого пародонтита:

впервые предложена и экспериментально подтверждена модель острого пародонтита у крыс, основанная на индукции медикаментозного дисбактериоза полости рта в сочетании с локальными аппликациями суспензии пчелиного яда на ткани пародонта.

- в части разработки и апробации модели гипосаливации:

впервые разработана и апробирована экспериментальная модель ксеростомии, эффективность которой подтверждена снижением скорости слюноотделения и данными морфологических исследований слюнных желез.

- в части комплексного исследования иммунологических и метаболических параметров при сочетанной патологии:

впервые проведено всестороннее исследование фагоцитарного, клеточного и гуморального звеньев иммунной системы, интенсивности липопероксидации, активности ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы, а также цитокинового профиля при остром пародонтите на фоне ксеростомии у крыс. Установлено, что ксеростомия на фоне пародонтита приводит к снижению количества CD4⁺-лимфоцитов, нарушению соотношения субпопуляций лимфоцитов CD4⁺ и CD8⁺ с достоверным ($p < 0,05$) снижением иммунорегуляторного индекса.

- в части определения роли гормонов слюнных желез в лизосомальном аппарате:

впервые показано, что снижение уровня полипептидных гормонов околоушной слюнной железы (паротина) при ксеростомии угнетает лизосомальный аппарат клеток, влияя на синтез и деградацию лизосомальных ферментов пародонта, что способствует накоплению молекул средней массы из-за нарушений их дальнейшей деградации и выведения.

- в части определения системных эффектов пародонтита и ксеростомии:

впервые установлено, что экспериментальный пародонтит у крыс вызывает активацию системного ответа на локальное воспаление, обусловленную усилением неспецифических факторов иммунной защиты, повышением продукции провоспалительных цитокинов и

снижением экспрессии противовоспалительных. Предварительное моделирование ксеростомии значительно подавляет иммунный ответ на пародонтит и негативно влияет на цитокиновый статус сыворотки крови, усугубляя системные нарушения.

Теоретическая и практическая значимость работы. Настоящее исследование вносит значительный вклад в расширение теоретических представлений о патогенетических механизмах острого воспалительного процесса в тканях пародонта при снижении секреторной и гуморальной активности слюнных желез. Полученные данные позволяют глубже понять взаимосвязи между нормальной функцией слюнных желез, иммунологическими реакциями, метаболическими процессами в пародонте и системными проявлениями патологии, что открывает новые перспективы для фундаментальных исследований в области стоматологии и патологической физиологии.

Теоретическая значимость:

- в части расширения знаний о патогенезе пародонтита и ксеростомии:

результаты исследования уточняют роль секреторной недостаточности слюнных желез в прогрессировании воспалительных процессов в пародонте. Установлено, что гипосаливация не только снижает защитные свойства слюны, но и напрямую влияет на иммунные, метаболические и цитокиновые механизмы, приводя к системному дисбалансу. Выявленные закономерности дополняют существующие модели, показывая, как лизосомальная дисфункция, вызванная дефицитом полипептидных гормонов (например, паротина), способствует накоплению токсичных метаболитов и эндогенной интоксикации;

- в части вклада в понимание иммунных взаимодействий:

впервые продемонстрировано комплексное нарушение клеточного и гуморального звеньев иммунитета при сочетании пародонтита и ксеростомии, включая сдвиг в субпопуляциях лимфоцитов (снижение CD4⁺ и иммунорегуляторного индекса), активацию провоспалительных цитокинов и подавление неспецифических факторов защиты. Выявленные закономерности способствуют теоретическому осмыслению механизмов «порочного круга» между локальным воспалением и системными иммунными сдвигами, а также объясняет, почему пародонтит на фоне гипосаливации становится более агрессивным и резистентным к лечению;

- в части оценки метаболических аспектов и оксидативного стресса:

впервые установлено, что ксеростомия приводит к снижению интенсивности липопероксидации и уровня глутатиона в пародонте и крови, что указывает на нарушение антиоксидантной защиты и накопление продуктов метаболизма. Полученные данные расширяют представления о роли слюнных желез в поддержании оксидативного гомеостаза и лизосомального катаболизма, открывая новые направления для исследований в биохимии и патологии.

Результаты исследования формируют основу для теоретических моделей, которые могут быть использованы в будущих фундаментальных работах по изучению взаимосвязей между железами внутренней секреции, иммунной системой и воспалительными заболеваниями опорно-удерживающего аппарата зуба.

Практическая значимость:

- в части разработки диагностических и терапевтических подходов:

полученные данные позволяют разработать более точные критерии диагностики острого пародонтита на фоне ксеростомии у пациентов с учетом изменений в иммунном статусе, цитокиновом профиле и уровнях антиоксидантов, что может способствовать внедрению новых методов оценки риска прогрессирования заболевания, таких как мониторинг иммунорегуляторного индекса и активности лизосомальных ферментов;

- в части применения в клинической практике:

проведенное исследование подчеркивает необходимость комплексной коррекции, включающей стимуляцию слюноотделения, иммуномодуляцию и антиоксидантную терапию для пациентов с пародонтитом и гипосаливацией. Предложенные экспериментальные модели (острого пародонтита и ксеростомии) могут служить основой для скрининга

фармакологических средств, направленных на восстановление секреторной активности слюнных желез и подавление системного воспалительного ответа;

- в части профилактики и реализации долгосрочных стратегий:

выявленные взаимосвязи между нарушениями в слюнных железах и иммунными сдвигами обосновывают необходимость профилактических мер в группах риска (например, у пациентов с аутоиммунными состояниями или принимающими медикаменты, вызывающие ксеростомию), что может способствовать снижению частоты осложнений, таких как хронизация воспаления и системная эндогенная интоксикация, и улучшению качества жизни.

Внедрение результатов в клиническую практику стоматологии и смежных областей медицины (иммунология, эндокринология) позволит повысить эффективность лечения воспалительных заболеваний пародонта, особенно в условиях сопутствующих нарушений функции слюнных желез.

При выполнении экспериментального исследования разработаны новые хирургические и патофизиологические подходы, позволившие повысить эффективность моделирования исследуемой патологии и выживаемость животных, которые поддержаны Федеральным институтом промышленной собственности (ФИПС), что закреплено патентами РФ на изобретение: «Способ получения экспериментальной модели пародонтита» №2676649; «Способ создания экспериментальной модели остеопороза» №2676658; «Способ моделирования дефекта нижней челюсти у экспериментального животного» №2682613; «Устройство для фиксации фрагментов нижней челюсти у экспериментального животного» №2682615.

Методология и методы исследования. Методология настоящего диссертационного исследования базируется на принципах доказательной медицины и реализована в формате проспективного сравнительного исследования с формированием основных и контрольных групп. Исследование соответствует паспорту специальности 3.3.3. Патологическая физиология в части п.3 «Изучение механизмов системных изменений при локальном повреждении и закономерностей генерализации патологических процессов», п.4 «Анализ механизмов саногенеза, направленных на предотвращение повреждающего действия патогенного агента на организм, его органы и системы, изучение причин и особенностей взаимной трансформации саногенетических и патогенетических процессов» и п.8 «Изучение защитных, компенсаторных и приспособительных реакций организма, развивающихся в ответ на действие повреждающих факторов различной природы и при развитии патологических процессов».

Методы исследования: экспериментальные – для моделирования острого пародонтита (методом лигатуры) и ксеростомии (индукцией гипосаливации); биохимические – для оценки продуктов липидной пероксидации (уровень МДА), активности антиоксидантной системы (СОД, каталаза), содержания циркулирующих иммунных комплексов, показателей гуморального иммунитета (IgA, IgG) и эндогенной интоксикации (креатинин, мочевины) в сыворотке и тканях; иммуноферментные (ELISA) – для анализа цитокинового профиля (TNF- α , IL-1 β , IL-6) в тканевых гомогенатах и крови; цитофлуориметрические – для оценки клеточного звена иммунитета (CD4⁺ лимфоциты) и уровня активных форм кислорода (ROS) в клеточных популяциях; цитологические – для определения функциональной и метаболической активности фагоцитов (НСТ-тест, респираторный burst); морфологические – для анализа степени структурных повреждений в тканях пародонта (гистологические исследования); математико-статистические – для обработки и анализа количественных данных с использованием критериев Стьюдента и ANOVA.

Основные научные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Моделирование ксеростомии нанесением атропина сульфата (5 мг/кг) или тройного сополимера метилметакрилата (этакрил-гель) на слизистую оболочку полости рта крыс позволяет количественно (по объему и составу слюны) и качественно (по уровню сиаловых кислот и маркерам окислительного стресса) оценить дисфункцию слюнообразовательных

механизмов больших слюнных желез, что подтверждается данными биохимического анализа.

2. Наиболее точным маркером острого пародонтита у крыс является наличие сиаловых кислот (выше начального уровня в 1,5 раза) в слизистых и секреторных клетках слюнных желез, регистрируемое начиная с 10-х суток эксперимента, в то время как их отсутствие на поздних этапах в тканях пародонта указывает на переход к хронической форме воспаления.

3. Крысы с экспериментальным пародонтитом проявляют большую устойчивость к окислительному стрессу (по уровню МДА и активности антиоксидантов) и тканевому повреждению, в сравнении с животными, у которых острый пародонтит осложнен ксеростомией, что приводит к прогрессирующему разрушению пародонта.

4. При ксеростомии на фоне модельного пародонтита развиваются нарушения иммунологической реактивности, характеризующиеся иммуносупрессией (снижение CD4+ лимфоцитов и иммуноглобулинов) к 60-м суткам и последующей локальной активацией иммунитета к 90-м суткам (гиперергическая реакция с повышением цитокинов TNF- α и IL-6).

5. Сравнительный анализ выявил вклад иммуноглобулинов (снижение IgA и IgG) в формирование системного иммунодисбаланса на 60-е сутки при атропин-индуцированной ксеростомии (преимущественно дисфункция слюнных желез), и на 90-е сутки при этакрил-индуцированной модели (акцент на ксеростомию и пародонтальную дисфункцию).

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Достоверность результатов исследования обеспечена строгим соблюдением методологических принципов доказательной медицины, включая проспективный дизайн эксперимента с формированием контрольных и опытных групп, а также этических норм (в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных 1986 г., принципами надлежащей лабораторной практики ГОСТ Р 53434-2009 и Правилами лабораторной практики РФ, приказ Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003). Все эксперименты (in vivo и in vitro) проводились на 160 белых нелинейных крысах линии Wistar, с использованием валидированных моделей гипосаливации (индукция атропином сульфата 0,01% раствор, 2 раза в сутки в течение 15 дней; этакрил — тройной сополимер метилметакрилата, 25 мг/кг) и острого пародонтита (лигатура + аппликации пчелиного яда 2 мг/100 г массы тела + дисбактериоз линкомицином 30 мг/100 г). Размер выборки (n=10–30 на группу) рассчитан для достижения статистической мощности 80–90% (на основе предварительных данных, SD 10–15%, ожидаемый эффект 20–50%), что подтверждено пост-хок анализом в программных пакетах STATISTICA 12.0 и Microsoft Excel.

Методы исследования комплексны и взаимодополняющи: морфологические (гистология по гематоксилину-эозину, Массону; гистохимия PAS-реакция, Spicer-Lillie, альциановый синий); биохимические (спектрофотометрия для MDA/TBARS, гидропероксидов липидов, глутатиона; коммерческие киты для SOD, каталазы, церулоплазмина; ELISA для IgA/IgG/IgM, ЦИК); иммуноцитохимические (проточная цитометрия NovoCyte 3000 для CD4+/CD8+, ROS; НСТ-тест для фагоцитоза); статистика (t-критерий Стьюдента, ANOVA с пост-хоком Ньюмена-Кейлса, U-критерий Манна-Уитни, χ^2 Пирсона; p<0,05). Жизнеспособность клеток контролировалась (трипан синий <5% мертвых клеток), а данные воспроизводимы (дублирование проб, калибровка оборудования по GLP/ISO 15189). Различия значимы (r=0,7–0,9 для корреляций MDA/TNF- α , CD4+/иммунного индекса), с учетом межгрупповых вариаций (CV<15%). Ограничения (срок наблюдения до 90 суток, экстраполяция на человека) минимизированы валидацией моделей (снижение слюны >50%, морфометрия Video-Test Morphology 5.1).

Обсуждение результатов диссертации осуществлено на 6 международных и всероссийских научно-практических конференциях, где материалы подверглись всесторонней экспертной оценке (доклады, постеры). Ключевые мероприятия: VI Открытая международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Москва, 22–25 ноября 2016 г.); конференция

молодых ученых «Фундаментальная медицина» (Ставрополь, 15–17 мая 2018 г.); аналогичная конференция молодых ученых «Фундаментальная медицина» (Ставрополь, 16–18 сентября 2019 г.); VI открытая международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Москва, 22–25 ноября 2019 г.); Международная научно-практическая конференция «День науки в Республике Беларусь – 2023» (Минск, 30–31 марта 2023 г.); Международная научная конференция «Современные проблемы медицины – 2025» (Минск, 16–18 апреля 2025 г.).

Апробация диссертации осуществлена в ходе расширенного заседания коллектива кафедры нормальной и патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Внедрение результатов исследований. Результаты диссертационной работы успешно внедрены в практику здравоохранения, где они активно применяются в диагностике и лечении патологий челюстно-лицевой области, обеспечивая более эффективные подходы к уходу за пациентами в рамках государственных и частных медицинских учреждений, что включает использование разработанных методик для улучшения протоколов терапии, способствуя снижению рисков осложнений и повышению качества жизни пациентов путем интеграции инновационных подходов в повседневную клиническую практику.

Кроме того, методические материалы, созданные на основе диссертации, интегрированы в учебные программы ключевых дисциплин, таких как нормальная и патологическая физиология, гистология и стоматология в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Личный вклад автора в исследование. Личный вклад автора в проведенное исследование проявился в полном и самостоятельном выполнении всего цикла научной работы, от планирования до реализации и финального оформления. Соискатель лично провел комплексный патентно-информационный поиск, что позволило определить актуальность темы, оценить уровень новизны разрабатываемых решений и избежать дублирования существующих разработок. На основе полученных данных автором лично сформирован детальный аналитический обзор литературы, охватывающий ключевые публикации в области пародонтита, ксеростомии и связанных иммунологических и метаболических процессов, что обеспечило прочную теоретическую базу для дальнейших исследований. Далее соискатель самостоятельно сформулировал цели и задачи диссертационного проекта, опираясь на анализ обнаруженных пробелов в научной литературе и результатов патентного поиска, что включало четкое определение приоритетов исследования, таких как изучение патогенетических механизмов острого воспаления в пародонте на фоне снижения функции слюнных желез, и разработку экспериментальных моделей для их воспроизведения. Организация и непосредственное выполнение лабораторных и опытно-конструкторских работ также лежали в полной компетенции автора: он разработал методологию экспериментов, провел сбор и обработку биоматериалов, организовал условия для наблюдения за развитием патологических процессов и осуществил все необходимые манипуляции *in vivo* и *in vitro*, включая моделирование острого пародонтита и ксеростомии.

Соискатель самостоятельно осуществил систематизацию, статистический анализ и обобщение полученных результатов, что подразумевало обработку больших объемов экспериментальных данных, применение современных статистических методов для выявления значимых закономерностей и трендов, а также интеграцию результатов из различных серий экспериментов. На основе глубокого анализа автором сформулированы основные выводы исследования и разработаны практические рекомендации. Все материалы диссертационной работы: от первоначальных публикаций в рецензируемых журналах (где отражены промежуточные результаты исследований) до полного текста диссертации и автореферата подготовил и написал лично автор.

Публикации по теме диссертации. По теме диссертации опубликовано 20 научных работ, из них 16 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, или индексируемых базой данных RSCI, или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, и издания, приравненные к ним, в том числе получено 5 патентов.

Структура и объем диссертации. Диссертация представляет собой исчерпывающий труд объемом 159 страниц машинописного текста, тщательно структурированный для логичного и последовательного изложения научных выводов. Она начинается с введения, где обосновывается актуальность темы и постановка задач, за которым следует обзор литературы, анализирующий современные тенденции и предшествующие исследования в данной области. Раздел материалов и методов исследования подробно описывает экспериментальные подходы и методики, обеспечивая воспроизводимость работы. Основная часть диссертации состоит из трех глав, посвященных собственным исследованиям, где анализируются данные, гипотезы и результаты экспериментов. Завершается диссертация заключением, суммирующим ключевые результаты автора, а также разделами с выводами, практическими рекомендациями и указателем литературы, включающим 134 источника (из них 65 отечественных и 69 зарубежных авторов), что отражает глубокий анализ как российской, так и международной научной базы. Для наглядности диссертация иллюстрирована 33 рисунками и микрофотографиями, а также содержит 12 таблиц с данными, что значительно облегчает восприятие сложных материалов и делает работу удобной для специалистов и начинающих исследователей.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Комплекс экспериментальных и лабораторных исследований был реализован для решения поставленных в работе задач. Экспериментальные исследования включали в себя: моделирование гипосаливации (ксеростомии), разработку экспериментальной модели острого пародонтита, разработку экспериментальной модели пародонтита при пониженной секреторной активности больших слюнных желез крыс. Лабораторные исследования включали в себя: биохимические – для оценки интенсивности процессов липидной пероксидации и системы антиоксидантной защиты, содержания циркулирующих иммунных комплексов, гуморального звена иммунитета, эндогенной интоксикации; иммуноферментные – для оценки цитокинового профиля; цитофлуориметрические – для исследования клеточного звена иммунитета и уровня активных форм кислорода; цитологические – для определения функциональной и метаболической активности фагоцитов; морфологические – для оценки структурных изменений в тканях пародонта и слюнных желез.

Материалы и методы экспериментальной части исследования

Экспериментальные исследования *in vivo* проведены на 160 белых нелинейных крысах.

Моделирование гипосаливации, не связанной с деструктивными изменениями в слюнных железах. Для оценки патоморфологических изменений в слюнных железах крысы выбраны большие слюнные железы (из-за простоты хирургического доступа к протокам и телу желез). Моделирование гипосаливации больших слюнных желез осуществляли в несколько этапов.

Первый этап реализовывали применением 0,01% раствора атропина сульфата. Известно, что атропин оказывает м-холиноблокирующее действие на окончания парасимпатических нервов, тем самым, снижает активирующее действие этой части вегетативного контроля за секрецией слюнных желез.

На втором этапе использовали Этакрил (АКР-15) - тройной сополимер метилметакрилата, сложных этилового и метилового эфиров и метакриловой кислоты. Атропин и Этакрил наносили, не втирая на слизистую оболочку полости рта экспериментальных животных 2 раза в сутки в течение 15 дней.

В исследование включено 40 крыс, разделенных на 3 группы: 10 контрольных, интактных животных – 1-я группа; 30 опытных животных, которым производилась обработка либо атропином (1-я опытная группа – 15 особей), либо Этакрилом (2-я опытная группа).

Сбор слюны осуществляли под общим наркозом (Zoletil 50), а эвтаназия животных проводилась путем передозировки эфира. Выделенные слюнные железы взвешивали на электронных весах. Морфологические изменения оценивали на гистологических препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, а также по методу Массона. Микроскопическое исследование срезов выполняли с помощью цифрового микроскопа Olympus BX45, оснащенного встроенной камерой. Морфометрический анализ проводили в программе Video-Test Morphology 5.1 для Windows. Цифровые данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента в программе Primer of Biostatistics 4.03 для Windows, считая различия достоверными при $p < 0,05$.

Разработка экспериментальной модели острого пародонтита. Исследование выполнено на 60 самцах лабораторных белых крыс с начальной массой тела 150–160 г, разделённых на основную и контрольную группы по 30 особей каждая.

Для формирования экспериментальной модели пародонтита животным основной группы под внутрибрюшинным наркозом тиопенталом натрия (расчётная доза 0,1 мл 5% раствора на 100 г массы тела) проводили внутримышечные инъекции линкомицина гидрохлорида (30 мг на 100 г массы тела) для индукции дисбактериоза полости рта. После этого выполняли аппликации на десны и ткани преддверия рта суспензии пчелиного яда в дозе 2 мг на 100 г массы тела. Каждому животному провели по 5 инъекций и 5 аппликаций с интервалом в 5 суток. Далее животных размещали в общих клетках с площадью 0,015 м² на особь. На протяжении всего периода моделирования (30 суток) к стандартному рациону в объёме 2 мл на животное добавляли подсолнечное масло с перекисным числом выше 40 единиц, подготовленное путём нагревания в присутствии 2% сульфата меди в течение 24 часов.

По завершении формирования модели пародонтита крыс выводили из эксперимента передозировкой эфира на 10-е, 30-е и 60-е сутки.

Для исследования у животных брали цельную кровь, плазму крови, сыворотку крови и гомогенат десен. В процессе эксперимента проводили наблюдения за поведением животных, цветом шерсти, поеданием кормов.

Основными объектами исследования служили три крупные парные слюнные железы: околоушная, подчелюстная и подъязычная.

Железы фиксировали последовательно в 10% нейтральном формалине, а затем в жидкости Гамперля (метод выявления полисахаридов в главных клетках желез). Проводку и заливку в целлоидин выполняли по стандартным протоколам.

Полисахариды дополнительно изучали с использованием Шифф-реакции (PAS-реакции) по методу Шабдаша, кислого раствора основного коричневого по М.Г. Шубичу (1963), окрашивания альциановым синим и азуром I при pH красителя от 1,5 до 4,5. Для определения химического состава выявляемых веществ применяли аналитическую схему Spicer и Lillie, включающую метилирование и деметилирование.

Гистологические срезы перед окрашиванием обрабатывали методом мягкого кислотного гидролиза, диастазой, тестикулярной гиалуронидазой и ацетилированием по Terneg и Lev. Выявление белков (суммарное) проводили при помощи гистохимической реакции Даниелли (в модификации М.Г. Шубича) и окрашивания прочным зелёным в кислой среде (при pH 2,5 и 6,0).

Разработка экспериментальной модели пародонтита при пониженной секреторной активности больших слюнных желез крыс. Эксперимент проведён на 60 белых лабораторных крысах (все – самцы), разделённых на 6 групп по 10 особей в каждой:

1-я: интактные животные, которым слизистую оболочку полости рта обрабатывали дистиллированной водой;

2-я: животные, у которых моделировали ксеростомию путём аппликации 0,01% раствора сульфата атропина в дозе 25 мг/кг;

3-я: животные, у которых моделировали ксеростомию путём аппликации этакрила в дозе 25 мг/кг;

4-я: животные, у которых моделировали острый пародонтит;

5-я: животные, у которых моделировали острый пародонтит на фоне ксеростомии, индуцированной атропином;

6-я: животные, у которых моделировали острый пародонтит на фоне ксеростомии, индуцированной этакрилом.

Вывод животных из эксперимента осуществляли на 60-е и 90-е сутки после начала исследования.

Хирургические этапы исследования больших парных слюнных желез. Все манипуляции выполнялись под общей анестезией (кетамин/ксилазин), с соблюдением асептики и этических норм (в соответствии с ARRIVE) (рисунок 1). Обезболивание производили с использованием наиболее распространенной схемы – кетамин + ксилазин, вводимых внутривенно. Дозировки рассчитывали в зависимости от веса крысы и цели исследования (расчетный период анальгезии 20-60 минут).



Примечание – а, б – подготовка операционного поля; в – разрез; г, д – препарирование тканей для раскрытия капсулы околоушной железы; е – выделение околоушной слюнной железы

Рисунок 1 – Экспериментальная часть исследования

Все экспериментальные исследования проводились в строгом соответствии с международными принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях (Страсбург, 1986). Эксперимент отвечал требованиям принципов надлежащей лабораторной практики (ГОСТ Р 53434-2009), международным рекомендациям по медико-биологическим исследованиям с использованием животных (1985), Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (приказ Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003), а также Общим этическим принципам экспериментов на животных в России (2011). Проведение работ одобрено положительным заключением этического комитета и осуществлялось в условиях вивария Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет».

Материалы и методы исследования интенсивности свободнорадикального окисления и состояния антиоксидантной системы

Выделение мононуклеарных лейкоцитов десен крыс. Для проведения экспериментов *in vitro* у животных выделяли фрагменты десен и получали гомогенат. Клетки отделяли от мононуклеарных лейкоцитов (МНЛ) путем центрифугирования в течение 5 минут. Жизнеспособность МНЛ определяли с помощью 0,5% трипанового синего, который смешивали с 0,1 мл суспензии клеток в равных объемах. Измерение считали достоверным, если доля «мертвых» клеток, содержащих краситель, не превышала 5%.

Оценка продукции активных форм кислорода мононуклеарными лейкоцитами десен методом проточной лазерной цитометрии. Уровень активных форм кислорода (АФК) в клетках определяли с помощью зонда дихлорфлуоресцеиндиацетата (ДХФ-ДА), поставляемого компанией Sigma Aldrich (США). Измерения проводили на основании интенсивности флуоресценции красителя, анализируемой на проточном цитометре NovoCyte 3000 (компания ACEA, США), оборудованном трёхлазерной системой с длинами волн 488 нм, 640 нм и 405 нм. Результаты выражали в условных единицах, соответствующих интенсивности свечения на одну клетку. Цитометр позволяет производить иммунофенотипирование, оценивать функциональную характеристику клеток (фагоцитоз, маркеры активации, определение антигена HLA-B27, внутриклеточные и растворимые цитокины). Методика позволяет оценить экспрессию генов и клеточный сигналинг, сортировку клеток, пролиферацию и апоптоз.

Определение содержания гидропероксидов липидов. Концентрацию гидропероксидов липидов (ГПЛ) определяли спектрофотометрически. В пробирку добавляли 0,2 мл плазмы крови или 10%-ного гомогената, затем вносили 4 мл смеси гептан–изопропанол (соотношение 1:1) и встряхивали на вибрационном столике в течение 15 минут. Далее в пробирку добавляли по 1 мл раствора HCl (pH 2,0) и 2 мл гептана, после чего смесь снова встряхивали. После отстаивания (в течение 30 минут) и расслоения отбирали гептановый слой и измеряли его оптическую плотность на лазерном спектрофотометре ЛФ-26. В качестве контроля использовали пробу, в которую вместо исследуемого материала добавляли 0,2 мл дистиллированной воды.

Определение уровня продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (TBARS-тест) как маркера малонового диальдегида (МДА). ТБК-реагирующие продукты, включая малоновый диальдегид (МДА), являются одним из ключевых индикаторов окислительного стресса и перекисного окисления липидов. Тест основан на специфической реакции МДА с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) в кислой среде, приводящей к образованию розового хромофора (триметинового комплекса). Измерение интенсивности окрашивания производили спектрофотометрически; для повышения точности и чувствительности дополнительно использовали высокопроизводительные микропланшетные ридеры (на базе ELISA-анализаторов), что позволило обрабатывать множественные пробы одновременно и минимизировать ошибки.

Для высокопроизводительного анализа использовали роботизированную станцию Beckman Coulter (США), а также комбинацию с хроматографическими методами (HPLC-Флуоресценция) для большей специфичности, так как ТБК-тест может реагировать с другими альдегидами (в соответствии с рекомендациями AOAC и стандартам GLP для биомедицинских исследований, 2021).

Определение активности супероксиддисмутазы. Супероксиддисмутаза (СОД) – ключевой антиоксидантный фермент, катализирующий дисмутацию супероксид-радикалов в пероксид водорода и молекулярный кислород, предотвращая окислительный стресс. Определение активности СОД основано на методе, использующем ингибирование ферментом реакции восстановления нитроблю-тетразолиума (НБТ) в присутствии феназинметасульфата (ФМС), генерирующего супероксид-радикалы. Активность выражается в международных единицах (IU/мг белка) или единицах на мг белка (U/мг белка), где 1 U соответствует количеству фермента, ингибирующему реакцию

восстановления НБТ на 50%. Современный подход включает использование коммерческих китов (например, Cayman Chemical или Randox), микропланшетных анализаторов для высокопроизводительного тестирования и строгое соблюдение стандартов GLP, включая калибровку, дублирование проб и анализ белка (метод Брэдфорда или бицинхониновый кислотный), что обеспечивает точность, чувствительность и минимизацию перекрестных реакций с другими антиоксидантами.

Метод соответствует рекомендациям IFCC (Международная федерация клинической химии, 2021) и стандартам ISO 15189 для аккредитованных лабораторий.

Определение активности каталазы. Активность каталазы в плазме крови и деснах измеряли спектрофотометрическим методом, основанным на потреблении субстрата – перекиси водорода (H_2O_2). Данный подход полностью соответствует стандарту, где каталаза разлагает H_2O_2 на воду и кислород, а количество оставшейся перекиси оценивали по реакции с молибдатом аммония в кислой среде, интенсивность цвета образованного стабильно окрашенного комплекса напрямую пропорциональна концентрации остаточного H_2O_2 . Интенсивность окраски измеряли на спектрофотометре при 410 нм, и активность выражали в микрокаталах на литр (мкат/л) для плазмы или на миллиграмм белка для дёсен. Пониженная активность указывала на окислительный стресс или воспаление.

Анализ проводили на плазме крови или гомогенате дёсен. Для десен готовили 10%-ный гомогенат: измельчали ткани в ледяном 0,05 М трис-буфере (pH 7.8), при температуре 4°C, чтобы избежать денатурации фермента, затем центрифугировали гомогенат при 4°C и 10000 об/мин 10 минут, для получения прозрачного супернатанта.

Определение содержания церулоплазмينا в плазме крови. Концентрацию церулоплазмينا измеряли в образцах плазмы крови, свободных от гемолиза, с использованием спектрофотометрического подхода, где субстратом служил пара-фенилендиамин. В исследуемую пробу, содержащую 0,1 мл плазмы, добавляли 8 мл ацетатного буфера (0,4 М, pH 5,5) и 1 мл раствора пара-фенилендиамина. контрольную пробу формировали аналогичным образом, но предварительно обрабатывали 1 мл 0,5% раствора солянокислого гидроксилamina для подавления активности фермента. Пробирки герметично закрывали и помещали в термостат при 37°C на 1 час. После этого в каждую пробирку, за исключением контрольной, вносили по 1 мл солянокислого гидроксилamina. Образцы выдерживали при 4°C в течение 30 минут, а затем измеряли оптическую плотность с помощью лазерного спектрофотометра ЛФ-26. Содержание церулоплазмينا напрямую коррелирует с интенсивностью окраски.

Определение концентрации восстановленного глутатиона. Концентрацию восстановленного глутатиона измеряли спектрофотометрическим методом с использованием реактива Элмана (5,5'-дитио-бис-(2-нитробензойная кислота, DTNB). Этот ферментативный анализ основан на реакции тиольных групп глутатиона с DTNB, которая образует окрашенный тионитрофенильный анион; интенсивность окраски пропорциональна содержанию глутатиона. Метод подходит для образцов крови или гомогенатов тканей (например, печени в разведении 1:10), занимает около 45 минут на пробу и дает результаты в мкМ/мл (микромоль на литр).

Материалы и методы исследования иммунного статуса

Исследование клеточного иммунитета. Показатели клеточного иммунитета определяли по методу, который основывается на взаимодействии моноклональных антител (МКАТ), меченных флюоресцентой меткой, с поверхностными антигенами лимфоцитов. В каждую пробирку вносили 20 мкл антител (CD4/CD8) и этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА). Образцы перемешивали и инкубировали 15-30 мин при комнатной температуре, затем анализировали на проточном цитометре NovoCyte 3000 (ф. «ACEA», США).

Определение содержания иммуноглобулинов классов А, М и G в сыворотке крови. Содержание иммуноглобулинов сыворотки крови изучали методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов Biochemic corp/grupp,

(США) согласно инструкциям фирмы-производителя, на анализаторе Sat-Cat. Количество иммуноглобулинов выражали в г/л.

Определение содержания циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови. Количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови определяли методом преципитации с использованием раствора полиэтиленгликоля-6000 (ПЭГ-6000). Этот турбидиметрический анализ основан на способности ПЭГ осаждать высокомолекулярные комплексы, образующие мутность; оптическую плотность измеряют при 450 нм и сравнивают с калибровочными кривыми (например, из стандартного человеческого гамма-глобулина). Метод чувствителен к комплексам больше 19S, занимает около 1 часа на пробу и норма – менее 50 единиц оптической плотности (ед. оптической плотности).

Исследование цитокинового статуса. Состояние системного и местного воспалительного процесса оценивали по параметрам ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-4 и ИЛ-10. Концентрацию цитокинов изучали методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Для определения цитокинов в лунки стрипов, подготовленных к анализу вносили по 250 мкл промывочного раствора на 30 минут. Затем удаляли жидкость из лунок и вносили в лунки по 100 мкл раствора рабочей концентрации и 100 мкл сыворотки крыс. Инкубировали 180 мин при температуре 37°C. Удаляли содержимое стрипов и 2 раза промывали лунки 250 мкл промывочного раствора. Затем добавляли по 100 мкл конъюгата и инкубировали 60 мин при температуре 37°C. Удаляли содержимое стрипов и 3 раза промывали лунки по 250 мкл промывочного раствора, вносили в лунки по 100 мкл субстратного раствора, инкубировали в темном месте при комнатной температуре, после чего вносили по 50 мкл останавливающего реагента и измеряли при длине волны 450 нм на лазерном спектрофотометре ЛФ-26. Концентрацию ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-4 и ИЛ-10 выражали в мг/мл.

Выделение моноцитов из крови. В стерильные пробирки с 3% раствором ЭДТА забирали 4-5 мл крови крыс (соотношение 1 часть ЭДТА и 20 частей крови). С целью осаждения эритроцитов и получения лейкоцитарной взвеси в пробирку добавляли 10% раствор желатина в соотношении 10:1 и отстаивали 30 мин при температуре 37°C. Выделенную лейкоцитарную взвесь однократно отмывали 0,8% раствором хлорида натрия, центрифугировали 10 мин при 1500 об/мин до образования двух интерфаз. Разделение лимфоцитов и моноцитов осуществляли методом изокинетического центрифугирования в течение 5 мин при 400 об/мин. Количество жизнеспособных клеток оценивали в камере Горяева по реакции с трипановым синим, при этом жизнеспособными считали неокрашенные клетки. Работали с клеточными суспензиями, степень окрашенности клеток в которых не превышал 25%.

Тест нитросинего тетразоля (НСТ-тест). Бактерицидное действие фагоцитирующих клеток оценивали путем теста восстановления нитросинего тетразоля (НСТ-тест), который измеряет способность клеток вырабатывать супероксид-радикалы в процессе кислородзависимого метаболизма. НСТ-тест основан на восстановлении бесцветного нитросинего тетразоля в синий диформаза под действием кислородных радикалов, что приводит к формированию гранул в цитоплазме активных клеток. Метод используют для диагностики иммунодефицитов, результат выражают в проценте положительных клеток; норма – 10–20% для спонтанного теста и 60–80% для активированного.

Подсчет проводили вручную или с использованием автоматизированных систем (поточного цитометра ф.ХоК, Финляндия).

Методы исследования эндогенной интоксикации и состояния детоксикационной системы

Определение эритроцитарного индекса интоксикации (ЭИИ). Эритроцитарный индекс интоксикации рассчитывали по следующей методике. В пробирку с 1 мл 3,8% раствора цитрата натрия добавляли 5 мл крови, тщательно перемешивали и центрифугировали смесь 10 минут при 3000 об/мин. Для измерения оптической плотности использовали исходный раствор и надосадочную жидкость (супернатант), применяя колориметрию с

физиологическим раствором в качестве контрольной пробы (холостой пробы, blank). Метод основан на способности цитрата натрия гемолизировать эритроциты, что позволяет оценить уровень интоксикации по различию в оптической плотности.

Определение содержания молекул средней массы. Определение МСМ проводили путем определения оптической плотности при длине волны 254 нм (на цепные аминокислоты) и 280 нм (на ароматические аминокислоты) на лазерном спектрофотометре ЛФ-26. Результаты измерений выражали в условных единицах.

Методы статистического анализа

Все данные подвергались статистической обработке. Количественные показатели представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$). Для проверки статистических гипотез применялись как параметрические, так и непараметрические методы: t-критерий Стьюдента, однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим множественным сравнением по критерию Ньюмена-Кейлса, критерий Манна-Уитни (U-критерий) и критерий χ^2 Пирсона для качественных признаков. Расчёты выполнялись в программных пакетах Microsoft Excel (Microsoft, США) и STATISTICA 12.0 (StatSoft, США). Статистическая значимость различий оценивалась при уровне $p < 0,05$. Выбор методов зависел от распределения данных (для нормального распределения – параметрические, для ненормального – непараметрические). Если результаты ANOVA указывали на значимые различия, проводилось пост-хок-тестирование. Каждую выборку проверяли на достаточность для определения мощности теста (например, $n \geq 30$ для t-критерия).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведенное **морфологическое исследование** позволяет заключить, что, несмотря на признаки синтетической и секреторной активности ацинарных клеток слюнных желез при аппликации атропина, общий объем секрета существенно уменьшается. Данный эффект обусловлен конкурентной блокадой постсинаптических М-холинорецепторов, опосредующих влияние парасимпатической нервной системы на процесс слюноотделения. Эффект тройного сополимера метилметакрилата сопровождается атрофическими изменениями в слюнных железах с нарушением слюнообразования, что подтвердило ранее полученные результаты, свидетельствующие об уменьшении массы слюнных желез и снижении саливации.

При создании модели экспериментальной гипосаливации у крыс посредством неинвазивных подходов (нанесения атропина и тройного сополимера метилметакрилата, известного как этакрил) отмечается существенное уменьшение выработки слюны (в 2-4 раза ниже контрольных значений), что подтверждает эффективность модели без причинения разрушительного ущерба слюнным железам. Такой результат достигается путем влияния на слизистую оболочку ротовой полости, что нарушает секреторную активность и способствует возникновению стоматологических заболеваний вследствие утраты гомеостатических функций слюны (защитных от микробов механизмов, ремоделирования эмали и поддержания здоровья пародонта).

По данным морфологических исследований (окраска гематоксилином и эозином, по Массону) и измерений массы желез, механизмы гипосаливации существенно различаются.

Атропиновая модель: относительная масса больших слюнных желез (околоушных и поднижнечелюстных) увеличивается на 20-33%, что связано с конкурентной блокадой М-холинорецепторов, подавляющей парасимпатическое влияние. Морфологически наблюдается гиперактивация ацинарных клеток (уменьшение межклеточных пространств, интенсивная базофилия цитоплазмы, гипертрофия ядер), накопление секрета в расширенных протоках и вакуолях клеток, однако общий объем слюны снижается из-за затруднения выделения вязкого секрета из-за преобладания симпатического тонуса.

Этакриловая модель: масса желез уменьшается на 50% (околоушные и поднижнечелюстные), с атрофическими изменениями, включая дегенерацию ацинусов,

спадение просветов протоков, облитерацию и кальцификацию секрета. Отсутствие вакуолей в цитоплазме, деструкция эпителиоцитов и скопление продуктов распада указывают на постепенную деактивацию секреторной деятельности и токсическое поражение желез.

Установленные патологические изменения иллюстрируют патогенетические основы гипосаливации: симпатическая дисрегуляция при воздействии атропина и токсическая атрофия при воздействии Этакрила, что обуславливает риск стоматологических осложнений (кариес, пародонтит).

Таким образом, разработанные модели могут служить надежным инструментом для изучения патоморфологических эффектов без инвазивного воздействия на железы, подчеркивая ключевую роль слюны в поддержании здоровья полости рта.

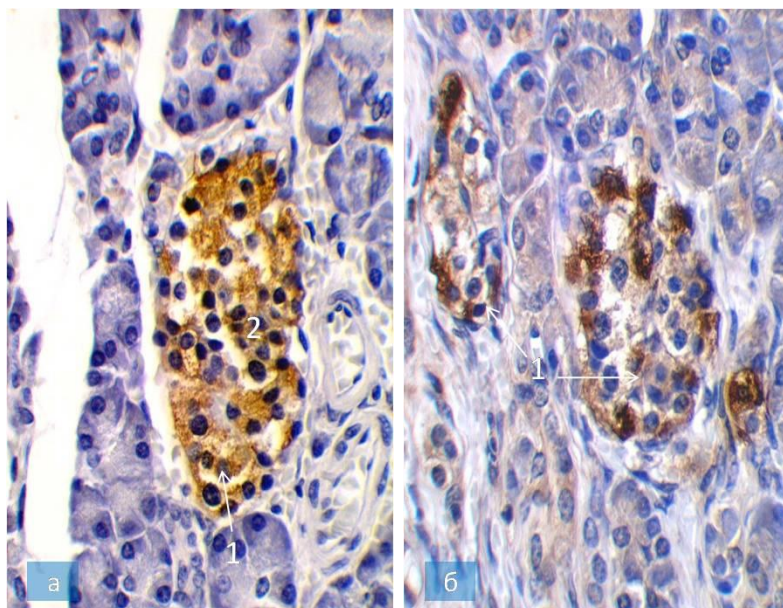
Иммуногистохимическое исследование показало, что концевые отделы околоушных желез животных преимущественно состоят из белковых железистых клеток, в то время как подчелюстные железы демонстрируют более сложную структуру, включающую как белковые, так и слизистые клетки. Эти типы клеток различаются не только морфологически, но и по функциональным характеристикам, влияя на состав секрета. В контрольной группе (без патологии) белковые вещества равномерно распределялись в обоих типах клеток, независимо от их природы. Однако при экспериментальном пародонтите в основной группе наблюдалась выраженная дифференциация: слизистые клетки содержали лишь минимальное количество белков, тогда как белковые клетки активно секретировали мукополисахариды, начиная уже с 10-го дня эксперимента. Это указывает на адаптивные изменения в секреторной активности как ответ на воспалительный процесс в тканях пародонта.

Ключевые гистохимические маркеры пародонтита. Сиаловые кислоты в слизистых клетках подчелюстной и подъязычной желез, а также в секреторных клетках околоушной железы служат надежным индикатором острого воспаления пародонта. Их присутствие подтверждается гистохимическими методами, такими как интенсивная PAS-реакция в апикальных гранулах, которая ослабляется после метилирования и гидролиза, свидетельствуя о преобладании свободных гликолевых групп. Напротив, исчезновение сиаловых кислот в этих структурах может сигнализировать о переходе патологии в хроническую фазу, что коррелирует с ослаблением иммунного ответа и нарушением барьерной функции полости рта.

Иммуногистохимическая динамика на различных этапах эксперимента. Проведенное иммуногистохимическое исследование крупных слюнных желез (околоушной, подчелюстной и подъязычной) у крыс с экспериментально вызванным пародонтитом показало поэтапные изменения в содержании полисахаридов и белков, которые соответствуют различным фазам воспалительного процесса.

На начальном этапе развития патологии (спустя 10 дней после моделирования) секреторные клетки околоушной железы проявляли выраженную PAS-положительность, обусловленную присутствием сиаловых кислот, что подтверждалось уменьшением интенсивности реакции после процедуры деметилирования, указывая на ключевую роль этих кислот в гликогенном составе клеток на ранних этапах воспаления (рисунок 2а).

В поднижнечелюстной и подъязычной железах слизистые клетки окрашиваются PAS-реакцией и альциановым синим с метахромазией азуром (при pH 2,5), указывая на присутствие немаскируемой 5-сиаловой кислоты и хондроитина-сульфата В. Белковые клетки характеризуются простой полисахаридной структурой с позитивной реакцией Даниелли.



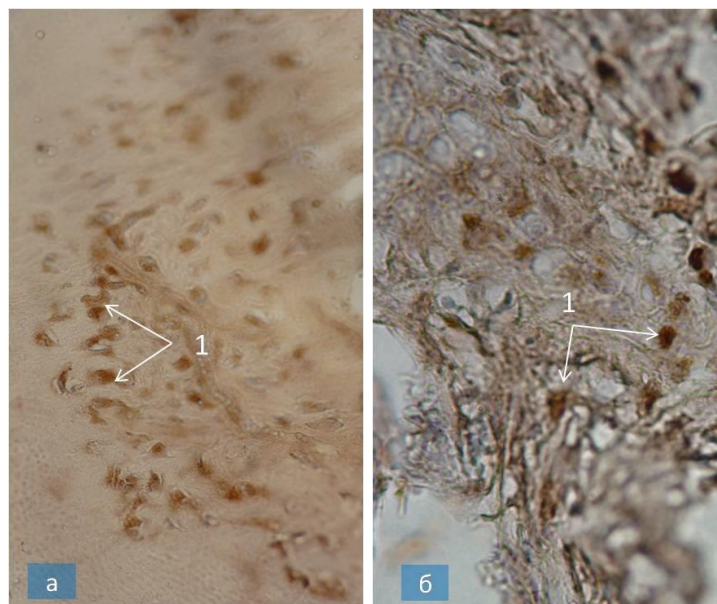
Примечание – а – интенсивно окрашенные гранулы (1) различной величины цитоплазме апикальной части клеток (2); б – ослабление интенсивности PAS-реакции гранул после обработки срезов мягким кислотным гидролизом и жестким метилированием. ИГХ реакция на полисахариды по Spicer и Lillie. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 20, об. 40
Рисунок 2 – Микропрепараты секреторных клеток околоушной железы на 10 (а) и 30 (б) сутки после формирования модели экспериментального пародонтита

На промежуточной стадии (30 суток): интенсивность окрашиваний снижается после метилирования и гидролиза, сохраняется слабая PAS-реакция на нейтральные мукополисахариды в околоушной железе и смешанные (нейтральные и сульфатированные) полисахариды в поднижнечелюстной (рисунок 2б, 3а). Белковые вещества проникают в слизистые клетки, преимущественно кислого характера, как показано окраской прочным зеленым в кислой среде.

На поздней стадии (60 суток): секреторные клетки околоушной железы теряют PAS-реакцию, альциановую окраску и метакромазию, что подтверждает хронизацию воспаления (рисунок 3б). В поднижнечелюстной и подъязычной железах сохраняется остаточная PAS-позитивность на сульфатированные мукополисахариды и фукозомуцины, с метакромазией азуром при низком pH и смешанной (кислой и основной) природой белков.

Установленные закономерности подтверждают роль сиаловых кислот как специфического маркера острого пародонтита, а их исчезновение — как признака хронизации процесса.

Полученные результаты подчеркивают важную роль слюнных желез в поддержании гомеостаза полости рта. Изменения в составе слюнного секрета, выявленные на клеточном уровне, приводят к снижению антимикробной защиты, нарушению реминерализации зубов и ухудшению целостности тканей пародонта, что способствует прогрессированию стоматологических заболеваний. Разработанные экспериментальные модели на основе этого исследования предоставляют ценные иммуногистохимические маркеры для ранней диагностики пародонтита и оптимизации терапевтических подходов, потенциально позволяя вмешиваться в воспалительный процесс на ранних этапах и предотвращать его хронизацию.



Примечание – а – остаточная PAS-реакция в цитоплазме секреторных клеток околоушной железы на нейтральные мукополисахариды (1); б – остаточная PAS-реакция в цитоплазме слизистых клеток подчелюстной железы на сульфатированные мукополисахариды (1). ИГХ реакция. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 20, об. 40

Рисунок 3 – Микропрепараты секреторных клеток околоушной (а) и слизистых клеток подчелюстной (б) железы на 30 (а) и 60 (б) сутки после формирования модели экспериментального пародонтита

Экспериментальное изучение патогенетических механизмов острого пародонтита (ОП) при пониженной секреторной и гуморальной активности больших слюнных желез крыс, индуцированной атропином или этакрилом, продемонстрировало, что гипосаливация усугубляет окислительный стресс, нарушая равновесие липопероксидации и антиоксидантной защиты. В условиях ОП наблюдалось повышение продукции активных форм кислорода (АФК) в 2–2,75 раза, гидроперекисей липидов (ГПЛ) в сыворотке и тканях десен, а также ТБК-активных продуктов и оснований Шиффа, что отражает активацию свободнорадикальных процессов и тканевое повреждение. Однако при сочетании ОП с ксеростомией (группы 5 и 6) этот рост был менее выражен, с пиком к 60-м суткам и снижением к 90-м суткам, что связано с истощением антиоксидантных резервов.

Пониженная активность слюнных желез приводила к снижению активности супероксиддисмутазы (СОД) на 21–92% и каталазы на 17–75%, концентрации церулоплазмина на 37–41% и восстановленного глутатиона (ВГ) на 18–33% в гомогенатах десен и крови. При этом этакрил-индуцированная ксеростомия вызывала более глубокое истощение антиоксидантов (увеличение азометинов и снижение ТБК-продуктов), усугубляя окислительные повреждения тканей пародонта. Животные с ОП без ксеростомии проявляли большую резистентность к окислительному стрессу, подчёркивая защитную роль секреторной активности слюнных желез в поддержании антиоксидантного гомеостаза полости рта.

Таким образом, гипосаливация активирует патогенетические звенья пародонтита через дисбаланс оксиданты/антиоксиданты, способствуя хронизации воспаления и снижению резистентности пародонта.

Установленные закономерности подтверждают необходимость учёта функционального состояния слюнных желез в диагностике и лечении стоматологических патологий, где их регуляция может предотвратить прогрессирование окислительного стресса и тканевых разрушений. Данные открывают перспективы для фармакологической коррекции гипосаливации как ключевого фактора в патогенезе пародонтита.

Исследование особенностей неспецифического и специфического звеньев иммунной защиты у крыс с острым пародонтитом (ОП) на фоне ксеростомии, индуцированной атропином или этакрилом, выявило заметные изменения иммунного статуса, отражающие дисбаланс между воспалительной активацией и супрессией.

В неспецифическом звене фагоцитарная активность (НСТ-тест) у животных с изолированным ОП оставалась стабильной, но при сочетании с ксеростомией снижалась, особенно к 90-м суткам, с этакрилом вызывая более выраженное повышение резервных возможностей слюноотделения.

Клеточное звено характеризовалось разнонаправленным воздействием индукторов ксеростомии: атропин снижал CD4-лимфоциты и иммунорегуляторный индекс, этакрил повышал их. ОП приводил к росту CD4/CD8, а при комбинации с ксеростомией отмечалось достоверное снижение индекса до 0,99–1,06, указывая на иммуносупрессию и нарушение баланса Т-хелперов и киллеров.

Гуморальное звено реагировало снижением иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA) на 60-е сутки при ОП, с последующим восстановлением, но при ксеростомии изменения зависели от типа индуктора (этакрил более негативно влиял на IgG и IgM к 90 суткам).

Цитокиновый статус проявлял активацию провоспалительных цитокинов (ФНО- α в 1,6–1,89 раза, IL-1 β в 1,4–1,93 раза) при ОП + ксеростомии, особенно с этакрилом, параллельно росту противовоспалительных (IL-4 и IL-10), но с последующим снижением IL-10 к 90 суткам, свидетельствуя о системном воспалительном ответе и его истощении.

Таким образом, острый пародонтит стимулирует иммунную реакцию, однако гипосаливация, особенно этакрил-индуцированная, подавляет клеточный и гуморальный иммунитет, усугубляя цитокиновый дисбаланс и способствуя хронизации воспаления в пародонте. Установленные закономерности подчеркивают роль слюнных желез в поддержании иммунного гомеостаза и также, как установлено в предыдущем разделе, открывают возможности для иммуномодулирующей терапии в стоматологии.

Наличие ксеростомии у экспериментальных животных влияет на функциональное состояние нейтрофилов и активность в них окислительных процессов. Воспалительные изменения в пародонте у крыс, развивающиеся на фоне ксеростомии, отличаются более тяжелым и острым характером. Животные с изолированным пародонтитом демонстрируют повышенную сопротивляемость оксидативному стрессу и повреждениям тканей по сравнению с теми, у которых пародонтит сочетается с ксеростомией. У этих особей установлена прямая зависимость между выраженностью окислительного стресса и видом химического агента, индуцировавшего гипосаливацию. Например, после аппликаций этакрила в сыворотке крови и гомогенатах десен отмечалось снижение концентрации конечных продуктов липидной перекисидации – ТБК-активных соединений.

Снижение уровня полипептидных гормонов околоушной слюнной железы при ксеростомии сопровождается угнетением лизосомального аппарата клеток, оказывает влияние на синтез и деградацию лизосомальных ферментов тканей пародонта, что может быть причиной накопления молекул средней массы вследствие нарушения их дальнейшей деградации и выведения.

Установлено, что экспериментальный пародонтит у крыс сопровождается активацией системного ответа местной воспалительной реакции, вызванной интенсификацией неспецифических факторов иммунной защиты, интенсивным продуцированием провоспалительных и угнетением экспрессии противовоспалительных цитокинов. Предварительное моделирование ксеростомии в значительной степени подавляет иммунный ответ на воспаление тканей пародонта и негативно влияет на цитокиновый статус сыворотки крови.

Снижение уровня интенсивности метаболических и оксидативных процессов в тканях пародонта при ксеростомии сопровождается снижением уровня гидроперекисидации липидов и восстановленного глутатиона как в пародонте, так и в крови, что обуславливает усиление

эндогенной интоксикации из-за нарушения метаболизма, в частности при участии лизосомальных гидролаз, и вывода этих продуктов.

У экспериментальных животных с пародонтитом на фоне ксеростомии выявлено существенное снижение количества CD4-лимфоцитов, с дисбалансом в соотношении основных субпопуляций лимфоцитов (CD4 и CD8). Нарушения иммунологической реактивности в клеточном звене отражают усиление взаимного негативного влияния воспалительного процесса в пародонте и гуморального сбоя в работе слюнных желез, повышение вероятности системных нарушений иммунной защиты в условиях сопутствующего дефицита как секреторного, так и гуморального компонента слюны.

Современный уровень технологического уклада позволяет вывести решение основных задач патологической физиологии на новую ступень. Вместе с тем, неизменным остается основной метод патофизиологии – метод патофизиологического эксперимента. Только в условиях моделирования патологических процессов, эквивалентов заболеваний человека, удастся получить новые знания в области этиологии, патогенеза, лечебных, профилактических и реабилитационных мероприятий. Представленное исследование проведено с использованием двух модельных состояний: модель гипосаливации и модель пародонтита у лабораторных животных. Модели гипосаливации выбраны с учетом возможности оценить различные механизмы формирования ксеростомии (рисунок 4).

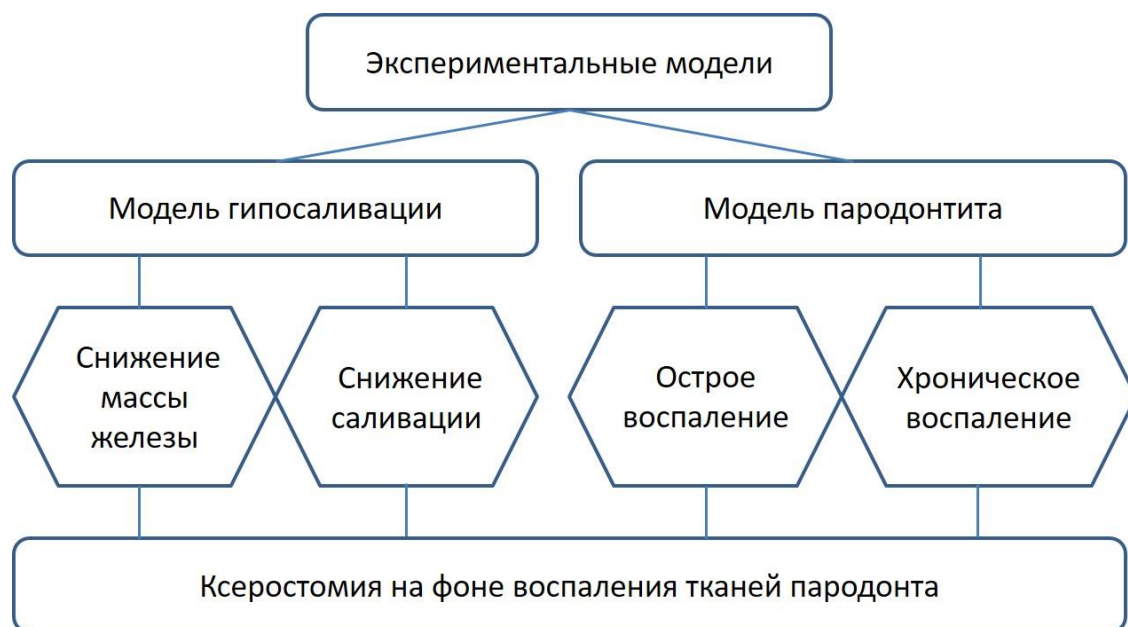


Рисунок 4 – Экспериментальные модели

Использование атропина (блокада парасимпатической иннервации) и этакрила (атрофия слюнных желез) позволило сравнить обратимые и необратимые эффекты гипосаливации в контексте сочетанной патологии пародонта.

Морфологические и гистохимические особенности слюнных желез при моделировании пародонтита. Согласно морфологическим исследованиям, полученным в ходе работы, слюнные железы активно функционируют при атропиновых аппликациях, однако, слюны выделяется мало за счет дезактивации парасимпатической нервной системы. Эффект тройного сополимера метилметакрилата сопровождается атрофическим изменениям в слюнных железах с нарушением слюнообразования, что подтвердило ранее полученные результаты, свидетельствующие об уменьшении массы слюнных желез и снижении саливации.

Данное свойство изученного соединения имеет существенное клиническое значение, поскольку тройной сополимер метилметакрилата до сих пор используется в ортопедической стоматологии, в том числе, для изготовления мягких подкладок в съемных протезах, а также

в некоторых видах пломбировочного материала. Это создает условия для длительного присутствия материала в слюне пациентов с возможностью воздействовать на структуру и функцию слюнных желез. В процессе морфологического анализа выявлено, что терминальные отделы околоушных желез покрыты белковыми железистыми клетками, тогда как аналогичные структуры подчелюстных желез сформированы железистыми клетками двух типов — белковыми и слизистыми, которые различаются как по функциональным характеристикам, так и по морфологическим особенностям. Результаты исследования подтверждают, что в слюнных железах животных контрольной группы белковые компоненты выявлялись с равной частотой в клетках обоих типов — как белковых, так и слизистых. В экспериментальной группе с пародонтитом гистохимический анализ показал отчетливую дифференциацию между слизистыми и белковыми клетками: секрет слизистых клеток содержал минимальное количество белка, в то время как белковые клетки активно продуцировали мукополисахариды, что наблюдалось уже с 10-го дня эксперимента. Определено, что наличие сиаловых кислот в слизистых клетках подчелюстной и подъязычной желез, а также в секреторных клетках околоушной железы служит специфическим индикатором острого пародонтита; отсутствие этих кислот в данных структурах может рассматриваться как один из симптомов перехода воспалительного процесса в пародонте в хроническую стадию.

Влияние ксеростомии на оксидативный стресс и воспалительный процесс. Наличие ксеростомии у экспериментальных животных влияет на функциональное состояние нейтрофилов и активность в них окислительных процессов. Воспалительный процесс в пародонте крыс, протекающий на фоне ксеростомии, характеризуется более острым течением. Животные с изолированным пародонтитом демонстрируют повышенную устойчивость к оксидативному стрессу и повреждению тканей по сравнению с особями, у которых острый пародонтит осложнен ксеростомией. У этих животных выявлена прямая корреляция между степенью окислительного стресса и типом химического агента, вызвавшего ксеростомию. В частности, при аппликациях этакрила в сыворотке крови и гомогенатах десен наблюдалось снижение уровня конечных продуктов липидной пероксидации — ТБК-активных продуктов — и существенное повышение содержания азометинов (оснований Шиффа).

Снижение уровня интенсивности метаболических и оксидативных процессов в тканях пародонта при ксеростомии сопровождается снижением уровня гидропероксидации липидов и восстановленного глутатиона как в пародонте, так и в крови, что обуславливает усиление эндогенной интоксикации из-за нарушения метаболизма, в частности при участии лизосомальных гидролаз и вывода этих продуктов.

Эндогенная интоксикация и роль лизосомальных ферментов. Снижение уровня полипептидных гормонов околоушной слюнной железы (паротина) при ксеростомии сопровождается угнетением лизосомального аппарата клеток, оказывает влияние на синтез и деградацию лизосомальных ферментов тканей пародонта (например, катепсина D и кислой фосфатазы), что может быть причиной накопления молекул средней массы (МСМ) вследствие нарушения их дальнейшей деградации и выведения.

Экспериментальный пародонтит сопровождался ростом МСМ (МСМ1 — на 68,3%, МСМ2 — на 55,2% к 60 суткам по сравнению с интактными животными. При сочетании с ксеростомией рост МСМ оказался более выраженным, особенно МСМ2 (до 222–243% от нормы), с этакрилом вызывая более значительные изменения ($p < 0,001$) за счет усиления деградации белков, перекисного окисления липидов (ПОЛ) и нарушения элиминации. Эритроцитарный индекс интоксикации (ЭИИ) у крыс с пародонтитом вырос в 1,35 раза к 60 суткам, при ксеростомии — до 162–178%, особенно с этакрилом.

Активность лизосомальных ферментов в гомогенатах десен повышалась при пародонтите + ксеростомии: на 60 суткам в 1,5–1,8 раза, снижаясь к 90 суткам, но оставаясь выше нормы (141–154%), с этакрилом вызывая более стабильный рост (до 154,9%), что указывает на

активацию катаболизма и миграцию нейтрофилов в очаг воспаления, усугубляемую гипосаливацией.

Иммунный ответ и цитокиновый статус при сочетанной патологии. Установлено, что экспериментальный пародонтит у крыс сопровождается активацией системного ответа местной воспалительной реакции, вызванной интенсификацией неспецифических факторов иммунной защиты, интенсивным продуцированием провоспалительных и угнетением экспрессии противовоспалительных цитокинов. Снижение уровня полипептидных гормонов околоушной слюнной железы при ксеростомии сопровождается угнетением лизосомального аппарата клеток, оказывает влияние на синтез и деградацию лизосомальных ферментов тканей пародонта, что может быть причиной накопления молекул средней массы вследствие нарушения их дальнейшей деградации и выведения. Предварительное моделирование ксеростомии в значительной степени подавляет иммунный ответ на воспаление тканей пародонта и негативно влияет на цитокиновый статус сыворотки крови (рисунок 5).

У экспериментальных животных с пародонтитом на фоне ксеростомии выявлено существенное снижение количества CD4-лимфоцитов, с дисбалансом в соотношении основных субпопуляций лимфоцитов (CD4 и CD8).

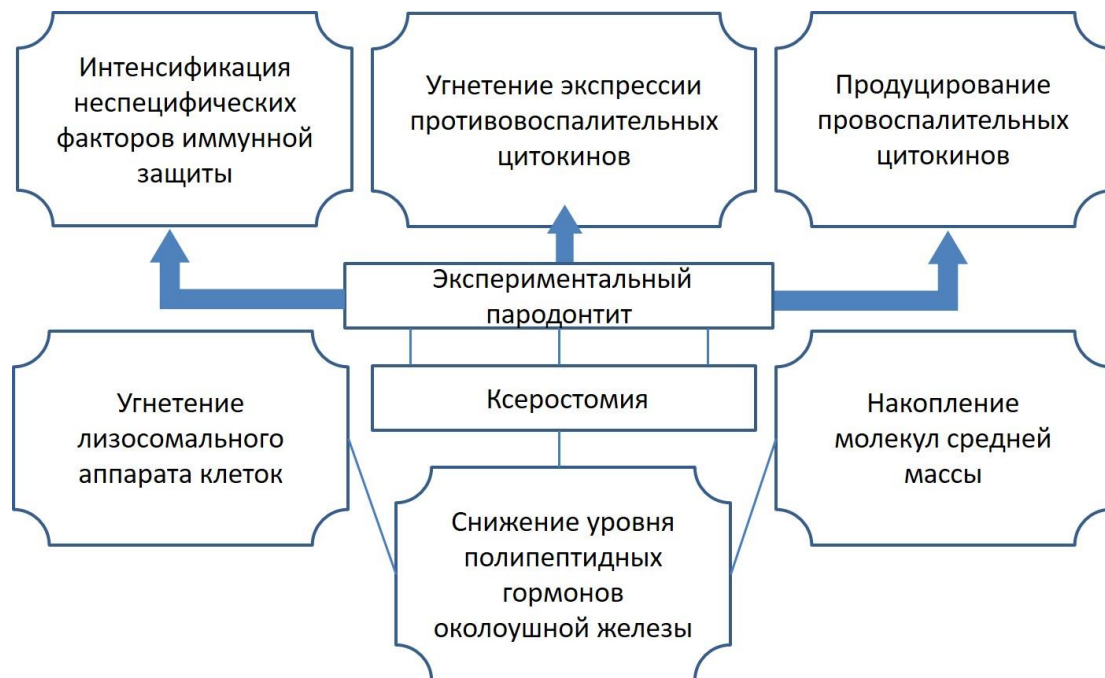


Рисунок 5 – Патофизиологические процессы на фоне экспериментального пародонтита

Нарушения иммунологической реактивности в клеточном звене отражают усиление взаимного негативного влияния воспалительного процесса в пародонте и гуморального сбоя в работе слюнных желез, повышение вероятности системных нарушений иммунной защиты в условиях сопутствующего дефицита как секреторного, так и гуморального компонента слюны (рисунок 6).

Полученные научные данные позволяют дать новую оценку роли секреторной и гуморальной активности слюнных желез в развитии и прогрессировании воспалительных заболеваний пародонта с позиции патологической физиологии. Ключевыми патогенетическими механизмами являются: морфологические изменения в железах, ведущие к гипосаливации и диспротеинемии; усиление оксидативного стресса и эндогенной интоксикации; подавление иммунного ответа и цитокинового баланса; нарушение катаболизма за счет дефицита паротина и активации лизосомальных процессов.

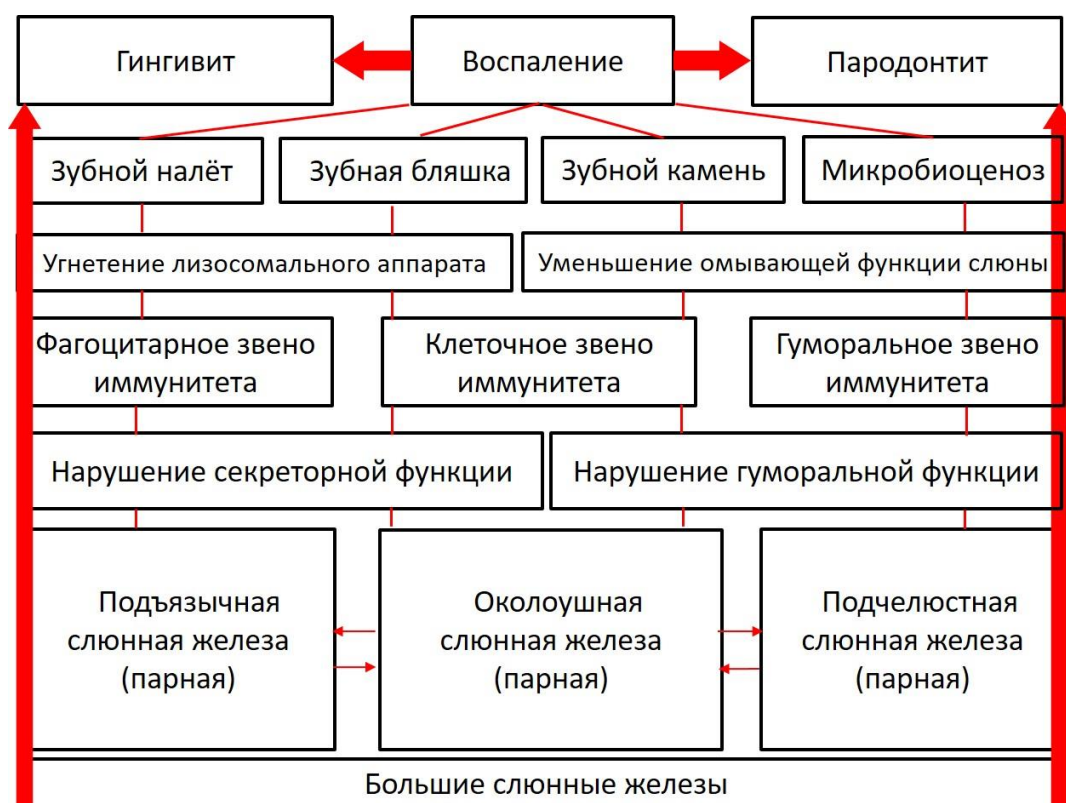


Рисунок 6 - Нарушения иммунологической реактивности в работе слюнных желез

Острый пародонтит индуцирует системный эндотоксикоз через накопление МСМ и повреждение мембран, а ксеростомия (особенно этакрил-индуцированная) потенцирует его путем снижения продукции паротина, приводя к хронизации воспаления и системным токсическим эффектам.

Установленные закономерности подчеркивают важность коррекции слюнной функции для предотвращения усугубления пародонтальной патологии. Полученные данные имеют большое значение как для экспериментальной медицины (моделирование патологий), так и для практического здравоохранения (профилактика осложнений у пациентов с гипосаливацией, например, в стоматологической практике).

ВЫВОДЫ

1. Моделирование гипосаливации с помощью атропиновых аппликаций в полости рта крыс приводит к снижению слюноотделения на фоне дезактивации парасимпатической нервной системы и гипертрофии слюнных желез. Аппликации тройного сополимера метилметакрилата вызывают не только нарушение слюноотделения, но и атрофию клеток паренхимы слюнных желез.

2. Экспериментальная модель пародонтита к 30-м суткам продемонстрировала клинические признаки: гиперемия десен, подвижность зубов, патологические зубные карманы глубиной 4–5 мм, наличие мягких и твердых над- и поддесневых отложений, а также деструкцию вершин межзубных костных перегородок (по данным рентгенографии). Гистохимическое исследование выявило резкую дифференциацию между слизистыми и белковыми клетками больших слюнных желез уже с 10-х суток эксперимента. Присутствие сиаловых кислот в слизистых клетках подчелюстной и подъязычной желез, а также в секреторных клетках околоушной железы служит специфическим маркером острого пародонтита, тогда как их отсутствие указывает на хронизацию воспаления к 60-м суткам.

3. Острый пародонтит у животных обеспечивает большую резистентность к оксидативному стрессу и повреждениям тканей, в отличие от случаев, когда этот процесс осложнен ксеростомией, где наблюдается дозозависимая связь между интенсивностью

окислительного стресса и характером химического раздражителя. При использовании этакрила регистрируется уменьшение концентрации ТБК-активных продуктов в сыворотке крови и гомогенатах десен при параллельном росте уровня азиометиннов.

4. При пародонтите воспалительный процесс характеризуется преобладанием Т-хелперов над цитотоксическими Т-лимфоцитами и повышением иммунорегуляторного индекса. Моделирование острого пародонтита на фоне ксеростомии вызывает обратную динамику иммунологических сдвигов: выраженную иммуносупрессию к 60-м суткам, вероятно, под влиянием гормональных факторов, включая паротин, и последующее нарастание уровня иммуноглобулинов к 90-м суткам, указывающее на гиперергический тип местного иммунитета, что свидетельствует о декомпенсации адаптации при данной сочетанной патологии.

5. Экспериментальный пародонтит у крыс сопровождается активацией системного ответа местной воспалительной реакции, вызванной интенсификацией неспецифических факторов иммунной защиты, интенсивным продуцированием провоспалительных и угнетением экспрессии противовоспалительных цитокинов. Предварительное моделирование ксеростомии в значительной степени подавляет иммунный ответ на воспаление тканей пародонта и негативно влияет на цитокиновый статус сыворотки крови.

6. Комплексный анализ взаимосвязи морфологических изменений в слюнных железах (гипертрофия или атрофия), дисбаланса антиоксидантной системы и иммунных сдвигов при сочетанной патологии (пародонтит на фоне ксеростомии) показал, что усугубление окислительного стресса (определяемое по типам раздражителей, таким как этакрил) коррелирует с иммуносупрессией и снижением экспрессии противовоспалительных цитокинов, что может служить основой для системного повреждения организма и хронизации воспалительного процесса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для экспериментального моделирования ксеростомии на животных при изучении количественных и качественных изменений в слюнообразовательных механизмах больших слюнных желез у крыс рекомендуется использовать аппликации на слизистую оболочку полости рта 0,01% раствора атропина 2 раза в день в течение 15 суток и тройного сополимера метилметакрилата 2 раза в день в течение 15 суток.

2. В рамках исследований предлагается инновационная модель экспериментального пародонтита, формируемая через индукцию дисбактериоза полости рта в сочетании с целенаправленным повреждением дёсен и преддверных тканей рта путем нанесения суспензии пчелиного яда в концентрации 2 мг на каждые 100 граммов массы тела подопытного животного на протяжении 30 дней. Условия эксперимента подразумевают размещение животных на специальном питательном режиме, где отсутствует твердая пища, но ежедневно вводится 2 мл рафинированного подсолнечного масла, предварительно обработанного нагревом с 2% раствором сульфата меди до достижения уровня перекисного числа, превышающего 40 единиц.

3. В качестве главных критериев сформированного экспериментального пародонтита крыс рекомендуется учитывать основные клинические признаки: гиперемия десен, подвижность зубов, патологические зубные карманы глубиной 4-5 мм, мягкие и твердые над- и поддесневые зубные отложения, рентгенологические признаки резорбции вершин межзубных костных перегородок.

4. При моделировании пародонтита у крыс в качестве лабораторного маркера острого пародонтита рекомендуется определять присутствие сиаловых кислот в слизистых и секреторных клетках слюнных желез, начиная с 10-х суток эксперимента.

5. При сочетанном моделировании пародонтита на фоне ксеростомии рекомендуется оценивать показатели окислительного стресса (уровень ТБК-активных продуктов и азиометиннов в сыворотке крови и гомогенатах десен) и иммунный статус (клеточное и гуморальное звенья, цитокиновый профиль), чтобы выявить системные эффекты и

взаимосвязи с морфологическими изменениями в слюнных железах для прогнозирования хронизации воспалительного процесса.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшие исследования в этой области могут включать разработку клинических протоколов для ранней диагностики и коррекции слюнной недостаточности при пародонтите, с использованием современных биомаркеров и генетического анализа для персонализированной терапии. Перспективы также связаны с интеграцией мультидисциплинарных подходов, объединяющих стоматологию, эндокринологию и фармакологию, для оценки системных эффектов эндотоксикоза и создания инновационных препаратов, стимулирующих продукцию паротина. Эти направления могут способствовать снижению хронизации воспалительных процессов и улучшению общего прогноза для пациентов с пародонтальной патологией.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Ферментативные защитные механизмы пародонта при экспериментальном воспалении / С. В. Сирак, Н. И. Быкова, **Н. Н. Диденко** [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2017. – Т. 12, № 4. – С. 414-417. (МБД Scopus Q3)
2. Osseointegration of newly developed ceramic implants in osteoporotic sheep / T. Fritsch, M. Aybazon, **N. Didenko** [et al.] // Journal of Dental Research. – 2017. – Vol. 96, № SA. – P. A3915. (МБД Scopus Q1)
3. Osteoporotic sheep mandibular model for comparative alveolar bone healing research / S. Sirak, E. Shchetinin, **N. N. Didenko** [et al.] // Medical News of North Caucasus. – 2017. – Vol. 12, № 3. – P. 284-289. (МБД Scopus Q3)
4. Технологические особенности применения репарантов при воспалительно-дистрофических заболеваниях пародонта функциональной этиологии / Г. Г. Петросян, М. Ю. Вафиади, **Н. Н. Диденко** [и др.] // Биотехнология: взгляд в будущее. Материалы III международной научно-практической конференции. – 2017. – С. 165-168.
5. Иммуногистохимические особенности больших слюнных желез при экспериментальном пародонтите / А. Г. Сирак, Е. В. Щетинин, **Н. Н. Диденко** [и др.] // Стоматолог. Минск. – 2018. – № 4 (31). – С. 64-69.
6. Опыт использования искусственной нейронной сети для классификации гистологических срезов / А. Г. Сирак, Е. И. Пискарева, **Н. Н. Диденко** [и др.] // Физико-химическая биология. Материалы VI международной научной Интернет-конференции. – 2018. – С. 134-136.
7. Isolation and characterization of neural crest-derived stem cells from adult ovine palatal tissue / M. T. Zeuner, **N. N. Didenko**, D. Humphries [et al.] // Frontiers in Cell and Developmental Biology. – 2018. – V.6. – №APR. – P. 39-44. (МБД Scopus Q1)
8. Osseointegration of newly developed ceramic implants in a sheep model / W. Grimm, T. Fritsch, **N. Didenko** [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2018. – Vol. 45, № S19. – P. 304. (МБД Scopus Q1)
9. Иммуногистохимические особенности больших слюнных желез крыс при экспериментальном пародонтите / А. Г. Сирак, Е. В. Щетинин, **Н. Н. Диденко** [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2018. – Т. 13, № 2. – С. 410-414. (МБД Scopus Q3)
10. Использование микроКТ для фенотипирования и анализа архитектуры костной ткани овец / И. В. Ржепаковский, А. А. Долгалев, **Н. Н. Диденко** [и др.] // Гены и Клетки. – 2019. – Т. 14, № S. – С. 195. (МБД Scopus Q4)
11. Способ создания экспериментальной модели остеопороза / С. В. Сирак, Е. В. Щетинин, **Н. Н. Диденко** [и др.] // Гены и Клетки. – 2019. – Т. 14, № S. – С. 213-214. (МБД Scopus Q4)

12. Морфологические изменения слюнных желез крыс в условиях экспериментальной гипосаливации / А. Г. Сирак, С. В. Сирак, **Н. Н. Диденко** [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2021. – Т. 16, № 1. – С. 71-72. (МБД Scopus Q3)

13. Стресс-индуцированные морфологические изменения околоушных слюнных желез крыс с нефизиологической окклюзией челюстей и возможности их коррекции / **Н. Н. Диденко**, Е. С. Сирак, Е. Е. Щетинина [и др.] // Вестник молодого ученого. – 2021. – Т. 10, № 1. – С. 3-7.

14. Влияние экзосом мезенхимных стволовых клеток и дефензина на биосовместимость материала для замещения костно-хрящевых дефектов / **Н. Н. Диденко**, Е. М. Бойко, А. А. Чагаров [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2023. – Т. 18. – № 4. – С. 406-408. (МБД Scopus Q3)

15. Роль секреторной и гуморальной активности больших слюнных желез в патогенезе пародонтита у крыс / А. Г. Сирак, **Н. Н. Диденко**, С. В. Сирак, Е. С. Переверзева // Вестник волгоградского государственного медицинского университета. – 2026. – Т. 23, № 1. – С. 115–119. (ВАК, K2)

16. Патент № 2703530 Российская Федерация, МПК G09В 23/28 (2006.01). Способ получения экспериментальной модели пародонтита : № 2017135879 : заявл. 09.10.2017 : опубл. 09.01.2019 / С. В. Сирак, Е. В. Щетинин, **Н. Н. Диденко** [и др.] ; заявители и патентообладатели ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России, С. В. Сирак, Е. В. Щетинин, Н. И. Быкова. – 2019. – Бюл. № 1. – 12 с.

17. Патент № 2676658 Российская Федерация, МПК, G09В 23/28 (2006.01). Способ создания экспериментальной модели остеопороза : № 2017135880 : заявл. 09.10.2017 : опубл. 09.01.2019 / С. В. Сирак, Е. В. Щетинин, **Н. Н. Диденко** [и др.] ; заявители и патентообладатели ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России, С. В. Сирак, Е. В. Щетинин, Н. И. Быкова. – 2019. – Бюл. № 1. – 14 с.

18. Патент № 2682615 Российская Федерация, МПК, А61В17/58 (2006.01), А61В17/60 (2006.01), А61В17/64 (2006.01), А61D1/00 (2006.01). Устройство для фиксации фрагментов нижней челюсти у экспериментального животного : № 2017142236 : заявл. 04.12.2017 : опубл. 19.03.2019 / А. А. Слетов, С. В. Сирак, **Н. Н. Диденко** [и др.] ; заявители и патентообладатели ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России, А. А. Слетов, С. В. Сирак, Е. В. Щетинин. – 2019. – Бюл. № 8. – 13 с.

19. Патент № 2682613 Российская Федерация, МПК, А61В17/00 (2006.01). Способ моделирования дефекта нижней челюсти у экспериментального животного : № 2017142235 : заявл. 04.12.2017 : опубл. 19.03.2019 / А. А. Слетов, С. В. Сирак, **Н. Н. Диденко** [и др.] ; заявители и патентообладатели ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России, А. А. Слетов, С. В. Сирак, Е. В. Щетинин. – 2019. – Бюл. № 8. – 14 с.

20. Патент № 2827355 Российская Федерация, МПК А61К 35/28 (2015.01), С12N 5/0775 (2010.01). Способ получения секрета мезенхимных стромальных клеток, содержащего фракцию экзосом : № 023135845 : заявл. 28.12.2023 : опубл. 24.09.2024 / **Н. Н. Диденко**, Д. В. Бобрышев, А. А. Долгалева [и др.] ; заявители и патентообладатели ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России. – 2024. – Бюл. № 27. – 12 с.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода
 ВГ – восстановленный глутатион
 ГПЛ – гидропероксиды липидов
 ОП – острый пародонтит
 МДА – малоновый альдегид
 МКАТ – моноклональные антитела
 МСМ – молекулы средней массы
 СОД – супероксиддисмутаза
 ЭИИ – эритроцитарный индекс интоксикации

Научное издание

Диденко Николай Николаевич

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать 26.06.2026.
Печать трафаретная. Формат 60х84 1/16.
Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ №